



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107260134 B

(45) 授权公告日 2021.06.08

(21) 申请号 201710551040.9

(22) 申请日 2013.03.08

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107260134 A

(43) 申请公布日 2017.10.20

(30) 优先权数据

61/608,625 2012.03.08 US

61/608,626 2012.03.08 US

61/746,528 2012.12.27 US

(62) 分案原申请数据

201380024273.3 2013.03.08

(73) 专利权人 美敦力AF卢森堡有限责任公司

地址 卢森堡卢森堡省

(72) 发明人 R·碧斯莱 A·海兹-亚米特

S·爱德华兹 L·加西亚

M·西尔弗 C·斯道蒙特

C·沙利文 J·特雷纳

S·突内夫

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

代理人 陈文青

(51) Int.Cl.

A61B 5/00 (2006.01)

A61B 5/145 (2006.01)

A61B 5/15 (2006.01)

A61B 5/157 (2006.01)

A61B 5/20 (2006.01)

A61B 10/00 (2006.01)

A61B 18/02 (2006.01)

A61B 18/14 (2006.01)

A61B 18/18 (2006.01)

A61N 1/05 (2006.01)

A61N 1/32 (2006.01)

A61N 1/36 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101489624 A, 2009.07.22

审查员 郑亮

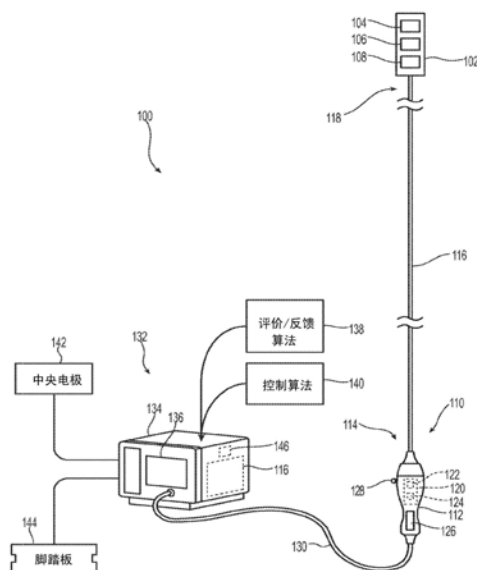
权利要求书2页 说明书65页 附图65页

(54) 发明名称

采用神经调节装置的生物标志物取样和相关系统与方法

(57) 摘要

本文公开了采用治疗性肾神经调节治疗患者的方法,和相关的装置、系统和方法。本技术的一个方面涉及神经调节装置、系统和方法内容中的生物标志物取样。例如,一些实施方式涉及用于对响应神经调节而变化的生物标志物取样的导管、导管系统和方法。例如,系统可包括长轴和具有神经调节和取样元件的神经调节和取样元件。



1. 一种神经调节系统,所述系统包含:

长轴,所述长轴包含:近端部分、位于近端部分的手柄、以及设置为腔内递送至人患者的动脉的远端部分;

通过所述远端部分耦合至所述长轴远端部分的神经调节和取样组件,所述神经调节和取样组件包含

能量递送元件,所述能量递送元件设置为调节至少接近人患者所述动脉处的神经,

取样口,所述取样口设置为在治疗位点处或附近自血管内获得人患者生物样品,以及

分析仪,该分析仪被并入所述手柄并耦合至所述长轴,并设置为通过所述长轴接收至少部分生物样品并检测来自所述生物样品部分的蛋白质水平或活性变化,所述变化与神经消融程度对应。

2. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述神经调节和取样组件还包括闭塞构件,该闭塞构件绕长轴接近所述取样口的部分延伸。

3. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述系统还包含取样腔,该取样腔从所述取样口向所述长轴的所述近端部分延伸。

4. 如权利要求3所述的系统,其特征在于,所述取样腔可操作地连接至负压源。

5. 如权利要求4所述的系统,其特征在于,所述取样腔包含单向阀。

6. 如权利要求4所述的系统,其特征在于,所述能量递送元件包括多个能量递送元件,且所述取样口包括散布有所述多个能量递送元件的多个取样口。

7. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述系统还包含位于所述长轴内的导线腔,所述神经调节和取样组件被设置成将所述导线递送到人患者的动脉处。

8. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述能量递送元件包括彼此隔开的多个能量递送元件,所述多个能量递送元件被设置为同时递送RF能量至神经。

9. 如权利要求1所述的系统,其特征在于:

所述神经调节元件具有递送状态和展开状态;且

所述神经调节元件的至少部分在展开状态下是螺旋形。

10. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述神经调节元件包含单一电极。

11. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述长轴的远端部分被设置成腔内递送到人患者的肾血管处。

12. 如权利要求1所述的系统,其特征在于,所述长轴的远端部分被设置成腔内递送到人患者的肾动脉处。

13. 如权利要求2所述的系统,其中所述闭塞构件是柔顺气囊。

14. 如权利要求1所述的系统,其中,所述蛋白质是炎性通路蛋白,抗炎性通路蛋白,热激反应通路蛋白,应激反应通路蛋白,其显示对暴露至神经调节能量响应的水平或活性变化。

15. 一种导管,包括:

长轴,所述长轴包含:设置为血管内递送至人患者肾血管内的治疗位点的远端部分,设置为体外定位的近端部分,而所述远端部分在肾血管内,以及位于近端部分的手柄;

位于所述长轴的所述远端部分的神经调节和取样组件,所述神经调节和取样组件包含能量递送元件,所述能量递送元件设置为调节人患者的肾神经,及

一个或多个取样口,所述取样口设置为在所述治疗位点处或附近自血管内获得人患者血液样品;以及

分析仪,该分析仪被并入所述手柄并与所述长轴液体连通,所述分析仪设置为通过所述长轴接受所述血液样品的至少一部分并检测来自所述血液样品部分的蛋白质水平或活性变化,所述变化与肾神经消融程度对应。

16. 根据权利要求15所述的导管,其特征在于所述神经调节和取样组件还包括闭塞构件,该闭塞构件绕长轴接近所述取样口的部分延伸。

17. 如权利要求15所述的导管,其特征在于:

所述神经调节元件具有递送状态和展开状态,且

所述神经调节元件的至少部分在展开状态下是螺旋形。

18. 如权利要求15所述的导管,其特征在于,所述分析仪还包含下列的一种或几种:检测剂、捕获剂、物理化学换能器、压电换能器和具有处理电路的处理装置。

19. 如权利要求15所述的导管,其特征在于,所述手柄还包括指示器,所述指示器设置为指示与分析仪加工的血液样品相关的听觉或视觉指示。

20. 如权利要求15所述的导管,其中,所述蛋白质是炎性通路蛋白,抗炎性通路蛋白,热激反应通路蛋白,应激反应通路蛋白,其显示对暴露至神经调节能量响应的水平或活性变化。

采用神经调节装置的生物标志物取样和相关系统及方法

[0001] 本发明专利申请是国际申请号为PCT/US2013/030041,国际申请日为2013 年3月8日,进入中国国家阶段的申请号为201380024273.3的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉参考

[0003] 本申请要求如下在审申请的权益:

[0004] (a) 2012年3月8日提交的美国临时申请号61/608,625;

[0005] (b) 2012年3月8日提交的美国临时申请号61/608,626;和

[0006] (c) 2012年12月27日提交的美国临时申请号61/746,528。

[0007] 所有前述申请均通过引用其全文纳入本文。此外,通过引用纳入的所述申请中公开的实施方式的组成和特征可与本申请中公开和请求保护的各种组成和特征相结合。

技术领域

[0008] 本技术一般涉及采用神经调节装置、系统和方法的生物标志物取样。例如,一些实施方式涉及用于对响应神经调节而变化的生物标志物取样的导管、导管系统和方法。

[0009] 背景

[0010] 交感神经系统 (SNS) 是主要的无意识身体控制系统,其通常与压力反应相关联。SNS神经支配组织的纤维存在于人体的几乎每个器官系统,并且能够影响多种特征例如瞳孔直径、肠道动力和尿排出。此类调节对保持体内稳定或使身体准备快速响应环境因素而言可具有适应性作用。然而,SNS的慢性激活是常见的适应不良的反应,这可推动许多疾病状态发展。肾SNS的过度激活一般在实验和人体中被鉴定为高血压、容量超负荷病症(例如心力衰竭)和进行性肾病的复杂病理生理学的可能原因。例如,已证明放射性示踪剂的稀释使原发性高血压患者中的肾去甲肾上腺素("NE")溢出率增加。

[0011] 心力衰竭患者中的心-肾交感神经机能亢进可能特别显著。例如,常发现这些患者中的源自心和肾的NE溢出增多。SNS激活的提高通常以慢性肾病和末期肾病为特征。在患有末期肾病的患者中,已证明高于中值的NE血浆水平能预测心血管疾病和一些致死原因。这对患糖尿病或造影剂肾病的患者也如此。证据表明,起源于患病的肾的感觉传入信号是起始并支持中枢交感神经溢出的主要原因。

[0012] 支配肾的交感神经在血管、肾小球旁器和肾小管中终止。肾交感神经的刺激可造成肾素释放增加,钠(Na⁺)重吸收增加和肾血流降低。这些肾功能的神经调节组分在以交感紧张升高为特征的疾病状态中受到显著刺激并且明显可能是引起高血压患者血压升高的原因。由肾交感神经传出刺激所致的肾血流和肾小球过滤率的降低可能是心-肾综合征(即,肾功能障碍作为慢性心力衰竭的进展性并发症)中肾功能丧失的基础。阻止肾传出交感刺激的药学方法包括中枢作用的交感神经阻滞药, β 阻滞剂(旨在降低肾素释放),血管紧张素转换酶抑制剂和受体阻滞剂(旨在阻断肾素释放后的血管紧张素II作用和醛固酮激活)和利尿剂(旨在抵消肾交感介导的钠水滞留)。然而,这些药学策略具有很大局限性,包括受限的功效、依从性问题、副作用等。

[0013] 附图简述

[0014] 参照以下附图可以更好地理解本发明的许多方面。附图中的各个组件未必是按比例画的。事实上,重点是清楚地说明本发明的原理。

[0015] 图1是说明肾神经调节系统的部分示意透视图,该系统包括按照本技术实施方式设置的治疗装置。

[0016] 图2A是说明按照本技术实施方式设置的图1的治疗装置的神经调节和取样组件的放大侧视图。

[0017] 图2B是根据本技术实施方式的图2A的神经调节和取样组件的部分的进一步放大的透视图。

[0018] 图2C是根据本技术的另一个实施方式的图2A的闭塞构件的部分的放大顶视图。

[0019] 图3-5是分别沿图2A中的线2-2、3-3和4-4的截面端视图。

[0020] 图6A是说明根据本技术实施方式的沿血管内路径推进图1中所示治疗装置的部分截面解剖正视图。图6B是根据本技术实施方式的图2A中所示的神经调节和取样组件在肾动脉中的截面图。

[0021] 图6C是图2A所示的神经调节和取样组件的截面图,其说明根据本技术实施方式在肾动脉内的治疗位置展开神经调节和取样组件的部分。

[0022] 图6D是图2A的神经调节和取样组件的截面图,其说明根据本技术实施方式的治疗位置处对肾动脉部分的闭塞。

[0023] 图7是根据本技术实施方式的图2A所示的神经调节和取样组件的截面图,其包括在肾动脉中的取样延伸。

[0024] 图8是说明图1的治疗装置的神经调节和取样组件的放大侧视图,其具有根据本技术实施方式设置的灌注腔。

[0025] 图9是沿图8中的线9-9的截面端视图。

[0026] 图10是根据本技术实施方式的神经调节和取样组件的截面图。

[0027] 图11是沿图10中的线11-11的截面端视图。

[0028] 图12是说明根据本技术实施方式设置的包括神经调节装置和分开取样装置的部分示意透视图。

[0029] 图13A-13B是说明根据本技术设置的图12的修复部分的不同实施方式的放大侧视图。

[0030] 图14是根据本技术实施方式的神经调节和取样组件的截面图。

[0031] 图15和16是分别沿图14中的线15-15和16-16的截面端视图。

[0032] 图17是根据本技术实施方式设置的传感系统的放大截面图。

[0033] 图18是根据本技术设置的传感系统的另一个实施方式的放大截面图。

[0034] 图19是根据本技术实施方式设置的测试元件的放大透视图。

[0035] 图20A是说明根据本技术实施方式设置的捕获测试元件的部分示意图。

[0036] 图20B是说明根据本技术实施方式设置的标记测试元件的部分示意图。

[0037] 图21是说明根据本技术设置的具有视觉指示的多个标记元件的示意图。

[0038] 图22A-22D是显示根据本技术实施方式设置的测试元件操作的示意图。

[0039] 图23是说明根据本技术实施方式设置的测试元件组件的部分示意截面图。

[0040] 图24是根据本技术设置的测试元件的另一个实施方式的部分示意透视图。

- [0041] 图25是说明根据本技术实施方式设置的测试元件组件的部分示意截面图。
- [0042] 图26A和26B是根据本技术设置的测试元件组件的不同实施方式的透视图。
- [0043] 图27A和27B是根据本技术设置的具有多于一个测试元件的测试元件组件 的不同实施方式的透视图。
- [0044] 图28说明用于快速监测肾神经调节的可能的靶生物标志物:动脉壁蛋白质、分泌的蛋白质、去神经支配导致激活的酶和分泌的小分子。
- [0045] 图29说明血管-神经相互作用导致的靶生物标志物显示的水平或活性变化。
- [0046] 图30说明对神经调节代替反应(例如,对RF反应)的靶生物标志物显示的水平或活性变化。
- [0047] 图31的图表说明靶生物标志物检测方法的不同示例,包括对动脉壁蛋白质 进行的基于抗体的检测(上图)、对分泌蛋白质进行的基于抗体的检测(中图)和对 酶活性进行的基于活力的检测(下图)。
- [0048] 图32的图表说明用于显示通过靶生物标志物和捕获剂或检测剂相互作用 产生的可检测信号的数字和模拟输出。
- [0049] 图33的图表说明用于在靶生物标志物与亲和配体捕获剂结合之后产生可 检测信号的量子点系统。
- [0050] 图34说明代表性的电化学免疫传感器方案。
- [0051] 图35是生物标志物捕获方法的示意截面图,包括(a)从捕获隔室中的神经调 节位点和死骨形成(sequestration)移出供于体内或离体分析(上图)和(b)基于气囊 的/半透过性的过滤装置,其中包埋有基于抗体/免疫电化学技术供于捕获和体 内或离体分析(下图)。
- [0052] 图36A-36C说明蛋白质靶生物标志物检测方法和装置的代表性实施方式。
- [0053] 图37说明用于测定肾神经调节过程成功可能性的生物反馈评分。
- [0054] 图38的图表说明融除后的平均肾NE水平。
- [0055] 图39的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的BDNF上调。
- [0056] 图40的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的CALCB上调。
- [0057] 图41的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的CD40L上调。
- [0058] 图42的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的CLU10上调。
- [0059] 图43的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的EDN310上调。
- [0060] 图44的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的IL-10上调。
- [0061] 图45的图表说明内皮细胞中融除后10分钟的KLKB1上调。
- [0062] 图46的图表说明内皮细胞中融除后24小时的BMP7上调。
- [0063] 图47的图表说明内皮细胞中融除后7天的LIF上调。
- [0064] 图48的图表说明内皮细胞中融除后7天的NTF3下调。
- [0065] 图49的图表说明用于人体外基因表达/分泌组学实验的示例性一般方案。
- [0066] 图50的图表说明内皮细胞中响应炎症/热度的LTA上调。
- [0067] 图51的图表说明内皮细胞中响应炎症/热度的POU1F1上调。
- [0068] 图52的图表说明内皮细胞中响应炎症/热度的CPS1上调。
- [0069] 图53的图表说明响应炎症/热度的NODAL上调。

- [0070] 图54的图表说明内皮细胞中响应炎症/热度的CCL13上调。
- [0071] 图55的图表说明内皮细胞中响应炎症/热度的IL-10上调。
- [0072] 图56的图表说明内皮细胞中响应炎症/热度的cTAGE-2的分泌增加。
- [0073] 图57的图表说明用于人体外基因表达/分泌组学实验的示例性一般方案。
- [0074] 图58A和58B的图表说明在(A)用炎症/热度处理的LUHMES分泌的蛋白质和(B)添加的神经元(重组)因子BDNF的存在下的HCAEC的SNCA表达上调。
- [0075] 图59的图表说明用炎症/热度和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5处理的神经元细胞中响应热度和/或炎症的BDNF表达的上调。
- [0076] 图60的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的FGF2表达上调。
- [0077] 图61的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的ARTN表达上调。
- [0078] 图62的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的CBLN1表达上调。
- [0079] 图63的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的NRG1表达上调。
- [0080] 图64的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的NRG2表达上调。
- [0081] 图65的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的NRG4表达上调。
- [0082] 图66的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的PSPN表达上调。
- [0083] 图67的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的NTF4表达上调。
- [0084] 图68的图表说明响应热度和/或炎症和添加的神经元(重组)因子BDNF或FGF5的TGFA表达上调。
- [0085] 图69是根据本技术的实施方式为了实时评估处理后生物标志物而设置的气囊收集导管的示意截面图。
- [0086] 图70A和70B的图表分别说明在去神经融除之前和之后的肾动脉血液中的NE水平,和在去神经融除之前和之后的肾动脉血液对比对照中的NE水平的升高。
- [0087] 图71的图表说明在去神经融除之前和之后的猪肾动脉和全身血液中的NE水平。
- [0088] 图72的图表说明在去神经融除之前和之后10分钟的猪肾动脉血液中的NE水平。
- [0089] 图73A和73B的图表分别说明在去神经融除之前和之后10分钟的猪肾动脉血液中的NE水平和去神经融除之后14天的肾NE水平。
- [0090] 图74的图表说明在去神经融除之后2、5和10分钟的猪肾血液中的NE水平。
- [0091] 图75的图表说明在去神经融除之后10分钟的猪肾动脉血液中的NE水平,对应于去神经融除之后14天的肾NE水平。
- [0092] 图76的图表说明去神经融除之后的NE水平升高。
- [0093] 图77的图表说明去神经融除之后的NE和CFL-1水平的变化。

[0094] 图78的概念性图表说明交感神经系统,以及大脑如何通过交感神经系统与 身体通信。

[0095] 图79是说明支配左肾以形成环绕左肾动脉的肾丛的神经的放大解剖学视图。

[0096] 图80A和80B分别是说明人体(包括脑和肾以及脑和肾之间的神经传出和传入通信)的解剖学视图和概念图。

[0097] 图81A和81B是分别说明人的动脉血管和静脉血管的解剖学视图。

[0098] 发明详述

[0099] 本技术涉及采用神经调节装置、系统和方法的生物标志物取样。例如,一些实施方式涉及用于对响应神经调节而变化的生物标志物取样的导管、导管系统和方法。本技术若干实施方式的特定细节在下文中参考图1-81B进行描述。尽管下文描述了关于涉及肾神经调节的血管内取样生物标志物的系统、装置和方法的许多实施方式,其它应用(例如,生物标志物取样和/或关于其它外周神经的神经调节、除神经调节以外的处理、效果等)和除本文所述那些的其它实施方式也在本技术的范围内。此外,本技术的一些其它实施方式可具有与本文描述那些不同的构造、组成或过程。因此,本领域普通技术人员应理解,所述技术可具有其它实施方式,采用其它元件,或该技术可具有不含所示和下文参考图1-81B描述的一些特征的其它实施方式。

[0100] 本文中所述的术语“远端”和“近端”定义相对于治疗的临床医师或临床医师的控制装置(例如,手柄组件)而言的位置或方向。“远端”或“远端地”可指远离或离开所述临床医师或临床医师的控制装置的位置或方向。“近端”或“近端地”可指靠近或朝向所述临床医师或临床医师的控制装置的位置或方向。

[0101] I. 肾神经调节

[0102] 肾神经调节是对支配肾的神经的部分或完全失能或其它有效干扰(例如,使神经纤维迟钝或失活或使功能完全或部分减弱)。例如,肾神经调节可包括抑制、减弱和/或阻止沿支配肾的神经纤维(即,传出和/或传入神经纤维)的神经通信。此类失能可以是长期的(例如,永久性 or 数月、数年或数十年长度的失能)或短期的(例如,数分钟、数小时、数天或数周的失能)。预计肾神经调节能有效地治疗以整体交感活性增加为特征的若干临床病症,并且,特别地,与中枢交感过度刺激相关联的病症,例如高血压、心力衰竭、急性心肌梗塞、代谢综合征、胰岛素抵抗、糖尿病、左心室肥大、慢性和末期肾病、心力衰竭中的不当液体潴留、心-肾综合征、骨质疏松和猝死等。传出神经信号的减弱通常导致交感神经紧张/激动的全身性减弱,从而预计肾神经调节有利于治疗与全身性交感活性过度和高活性相关联的若干病症。肾神经调节可潜在地有益于受交感神经支配的多种器官和身体结构。

[0103] 热作用可包括热融除和非融除性热变化或损伤(例如,通过持续加热和/或电阻加热)以部分或完全干扰神经传导信号的能力。所需的温度加热作用,例如,可包括使靶神经纤维的温度升高至高于所需阈值以实现非融除性热变,或高于更高的温度以实现融除性热变。例如,就非融除性热变而言,目标温度可高于体温(例如,约37℃)但低于约45℃,或就融除性热变而言,目标温度可高于约45℃或更高。更具体地,暴露至超过约37℃的体温但低于约45℃温度的热能,可通过对靶神经纤维或灌注所述神经纤维的血管结构的中度加热来诱导热变。血管结构受到影响时,可拒绝对靶神经纤维进行导致神经组织坏死的灌注。例如,这可诱导所述纤维或结构中的非融除性热变。暴露至高于约45℃或高于约60

℃温度的热度可通过对所述神经或结构的充分加热来诱导热变。例如,此类 较高温度可使靶神经纤维或灌注所述靶纤维的血管结构热融除。就一些患者而言,可能希望达到热融除所述靶神经纤维或血管结构的温度,但所述温度低于 约90℃,或低于约85℃,或低于约80℃,和/或低于约75℃。其它实施方式 可包括将组织加热至不同其它合适的温度。不论应用何种诱导热神经调节的热 暴露类型,均希望获得治疗效果(例如,降低肾交感神经活性(RSNA))。

[0104] 可采用多种技术来使神经通路(例如支配肾的那些)部分或完全失能。对组 织有目的地施加能量(例如,RF能量、机械能、声能、电能、热能等)和/或从组 织有目的地移除能量(例如,热能)可诱导对所述组织定位区域的一种或多种所 需的升温 and/或降温作用。例如,所述组织可以使肾动脉或肾丛附近区域的组织,所述肾丛紧密处于或邻近肾动脉的血管外膜。例如,所述有目的的能量的施加 和/或移除可用于实现沿所有或部分肾丛的治疗有效的神经调节。

[0105] 在基于证据的医疗时代,评估神经调节治疗的功效对于检验接受治疗的患 者是否需要额外神经调节治疗和/或替代性治疗而言可能是重要的。许多现有的 神经调节系统通过检测并分析不同生理学参数(例如,心率、血压等)来评估神 经调节功效。然而,所述治疗完成之后至少两周(并且在大多数情况中需要数月) 才能观察到此类生理学参数的统计学意义的变化。在没有实时或至少相对同期 反馈的情况下,处于融除、过融除或未融除的神经均可能没被检测到,或者最 起码在初始治疗后的数周或数月才可能接受临床处理。本文公开了通过检测与 神经调节相关联的一种或多种靶生物标志物的水平和/或活性变化来促进对神 经调节功效的相对快速分析的装置、系统和方法的若干实施方式。

[0106] II. 神经调节系统的选择的实施方式

[0107] 图1是说明根据本技术实施方式设置的系统100的部分示意图。该系统100 可包括治疗装置110(例如,导管),所述治疗装置110铜鼓连接器130(例如,电 缆)可操作地耦合至控制台(例如,能量发生器)132。如图1中所示,所述治疗装 置110可包括具有近端部分114的长轴116、位于近端部分114的近端区域的手柄 组件112,和相对于近端部分114向远端延伸的远端部分118。所述长轴116可设 置为将远端部分118定位在血管内(例如,肾动脉内)或治疗位置处的其它合适的 体腔内(例如,输尿管内)。所述治疗装置110还可包括神经调节和取样组件 102(由长轴116的远端部分118携载或附至该远端部分118)。所述神经调节 和取 样组件102可包括一个或多个能量递送元件104(示意性地示于图1)(例如,电极), 其设置为调节治疗位置处或附近的神经,以及一个或多个取样口108(也示意性 地示于图1),其设置为从治疗位置或所述治疗位置附近的其它合适位置收集生 物样品。本文中所用的“生物样品”或“样品”可指可通过神经调节影响(例如,可 能包含受神经调节影响的一种或多种靶生物标志物)的任何合适的体液(例如, 血液、血浆、尿液等)或组织。

[0108] 系统100还可包括分析仪120(例如,生物传感器),其设置为接受并分析由 神经调节和取样组件102收集的生物样品。该分析,例如,可检测与神经调节 有关的生物学参数(例如,样品中一种或多种生物标志物的水平或活性)变化。本文中所用的“靶生物标志物” 可以是在神经调节之后显示定量和/或可检测的 水平或活性变化的任何生物分子。在一些 实施方式中,靶生物标志物的水平或 活性变化可能是神经调节的直接结果(例如,直接响 应神经元损伤)。例如,交 感神经调节可导致肾位置或附近的神经交感末端排放神经递质

储量,导致生物标志物浓度增大(例如,生物标志物浓度激增或突增),这可在收集的生物液体(例如,肾动脉血液、肾静脉血液、全身血液或尿液等)中被检测到。此外或或者,靶生物标志物的水平或活性变化可以是对神经调节非直接和/或替代的反应。例如,靶生物标志物可以是蛋白质,例如炎性或抗炎性通路蛋白,热激反应通路蛋白或应激反应通路蛋白,其显示对暴露至神经调节能量(例如,RF能量)响应的水平或活性变化,在治疗位点处或附近的温度变化或伴随神经调节治疗的其它变化。

[0109] 非蛋白质靶生物标志物的示例包括儿茶酚胺和其它神经递质(例如,与交感神经活性相关联的那些,例如NE)、神经肽Y(“NPY”)、肾上腺素、多巴胺、分泌的激素和其它可溶性内分泌分子,以及分泌的代谢物和细胞碎片等。蛋白质靶生物标志物的示例包括细胞表面蛋白、分泌的蛋白质和胞内蛋白等。靶生物标志物和检测方法的其它示例示于下文部分III。

[0110] 如图1所示,分析仪120可被纳入治疗装置110的手柄112,并且可设置为通过长轴116接收生物样品。分析仪120可包括一种或多种检测剂(例如,靶生物标志物的底物,或以靶生物标志物为底物的酶或催化抗体)和/或捕获剂(例如,特异性结合至靶生物标志物和/或结合至所述靶生物标志物的酶促产物或副产物的试剂)、物理化学换能器122(例如,光学换能器、压电换能器、电化学换能器等),和具有处理电路的处理装置124(例如,微处理器)。

[0111] 一旦通过分析仪120接收样品,所述分析仪120中的检测和/或捕获剂即可与收集的样品的靶生物标志物(若存在)相互作用。在至少一些情况中靶生物标志物和捕获剂的结合和/或靶生物标志物与检测剂的相互作用可导致生物标志物响应(例如,颜色变化、形成反应产物或其它合适的响应)。所述物理化学换能器122可将所述生物标志物响应转换成更易被检测和定量的信号(例如,色度、荧光、热度、能量或电信号),其可被处理装置124感知或与处理装置124通信,供于储存和/或分析。所述处理装置124可以被可操作地耦合至手柄112携带的指示器126。所述指示器126可设置为指示与靶生物标志物的处理相关的合适信息(例如,样品日期、靶生物标志物状态和/或基于检测水平的神经调节状态或靶生物标志物的活性)。所述指示可以基于听觉或视觉。在一些实施方式中,所述指示器126包括合适的显示器组成,例如光发射二极管、成像显示器和/或制图用户界面。在一些实施方式中,所述分析仪120可被整合进入控制台132而不是手柄112。例如,在这些实施方式中,所述分析仪120可设置为从治疗装置110(例如,通过连接器130内或与连接器130分开的液体导管(未显示)(例如,聚合物管))直接接收生物样品。所述液体导管可在治疗装置110和控制台132之间延伸,其中与分析仪120整合的气体或液体泵(未显示)可将生物样品吸入分析仪120的部分。或者,所述液体或液体泵可至于手柄112的外壳内,以将生物样品传输至所述控制台内所含的分析仪120。在这些和其它实施方式中,手柄112可包括可移动容器(未显示),所述可移动容器设置为接收通过取样口108收集并通过轴116输送至所述容器的生物样品。为了检测和/或分析样品内的靶生物标志物,所述可移动容器可从手柄112移出并转移至分析仪120(例如,当分析仪120是远离的独立装置或当分析仪120被整合进入控制台132时,和/或在其它实施方式中分析仪120相对于治疗装置110而言距离较远时)。所述可移动容器可以重复使用或一次性使用。

[0112] 控制台132可设置为生成选定形式和/或大小的能量,以通过神经调节和取样组

件102的能量递送元件104递送至治疗位点。例如,控制台132可包括能量发生器(未显示),该能量发生器设置为产生RF能量(单极或双极)、脉冲的RF能量、微波能量、光学能量、超声能量(例如,血管内递送的超声、离体超声、高强度聚焦超声(HIFU))、冷冻治疗能量、直接热能、化学品(例如,药物或其它试剂)、辐射(例如,红外线辐射、可见辐射、伽马辐射)或其它合适能量形式。在一些实施方式中,神经调节可通过基于化学的治疗来实现,所述基于化学的治疗包括递送一种或多种化学品(例如,胍乙啶、乙醇、酚、神经毒素(例如,长春新碱)),或经选择以改变、损坏或干扰神经的其它合适的试剂。在特定实施方式中,所述控制台132包括RF生成器,其被可操作地耦合至神经调节和取样组件102的一个或多个能量递送元件104。此外,控制台132可设置为控制、监测、供给或支持治疗装置110的操作。例如,控制机器,例如脚踏板144,可被连接(例如,空气连接或电学连接)至控制台132,以允许操作者,以起始、终止和/或调节能量生成器的各种操作特性,例如功率递送。在一些实施方式中,控制台132可设置为通过能量递送元件104递送单极电场。在此类实施方式中,中央或分散电极142可电学连接至控制台132并附至所述患者(未显示)的外部。

[0113] 在一些实施方式中,系统100包括遥控装置(未显示),其可被设置为无菌的以便于其在无菌环境下应用。所述遥控装置可设置为控制神经调节和取样组件102、控制台132和/或系统100的其它合适组成的操作。例如,所述遥控装置可设置为允许神经调节和取样组件102的选择性激活。在其它实施方式中,可省去所述遥控装置并且可将其功能整合进入手柄112或控制台132。

[0114] 如图1所示,控制台132可包括具有显示器136的主外壳134。在一些实施方式中,控制台132包括具有处理电路(例如,微处理器)的控制器146。控制台132可设置为执行自动化的控制算法140和/或以从操作者接收控制指令。此外,控制台132可设置为在治疗过程之前、之中和/或之后通过显示器136和/或通过评估/反馈算法138向操作者提供反馈。例如,所述反馈可基于来自分析仪120的输出。控制器146可设置为执行存储的指令,所述存储的指令与控制算法140和/或评估/反馈算法138相关。

[0115] 控制台132可设置为与治疗装置110通信(例如,通过连接器130)。例如,神经调节和取样组件102和/或轴116可包括传感器106(例如,化学传感器、温度传感器、压强传感器或流速传感器)传感器导线(未显示)(例如,电学导线或压强导线),其设置以将来自传感器106的信号携带至手柄112。所述连接器130可设置为将来自手柄112的信号携带至控制台132。控制台132的控制器146可设置为与分析仪120的处理装置124通信(例如,通过连接器130、蓝牙、无线或当分析仪120处于手柄112内时或远离控制台132时的其它合适的方式)。

[0116] 在一些实施方式中,控制台132包括真空148或其它合适的负压源(例如,注射器),其可操作地耦合至神经调节和取样组件102的取样口108。在其它实施方式中,真空148可以是与控制台132分开的独立装置。真空148可以与取样口108通过轴116液体连接。可利用由真空148产生的负压,例如,以将生物样品吸入取样口108。而在其它实施方式中,治疗装置110可包括适配器(未显示)(例如,鲁克锁),其设置为可操作地耦合至注射器(未显示),而所述注射器可用于向轴116施加负压。

[0117] 图2A是说明根据本技术实施方式处于低外型(low-profile)或递送状态的神经调节和取样组件102的侧视图。所述神经调节和取样组件102可包括神经调节元件200、取

样元件过滤装置202和闭塞元件204。

[0118] 在一些实施方式中,神经调节元件200和取样元件202处于闭塞元件204的远侧,并且神经调节元件200处于取样元件202的远侧。

[0119] 在一些实施方式中,神经调节元件200和取样元件202处于闭塞元件204的远侧,并且取样元件202处于神经调节元件200的远侧。而在其它实施方式中,神经调节元件200、取样元件202和闭塞元件204可具有其它合适的排列。所述神经调节和取样组件102的近端区域208可由长轴116的远端部分118携带或附至该远端部分118。例如,神经调节和取样组件102可全部或部分(例如,近端部分)可以是轴116的整体延伸。在一些实施方式中,神经调节和取样组件的外型可在神经调节元件200和取样元件202之间扩大。神经调节和取样组件102的远端区域206可远端终止于,例如,非创伤的弹性曲端214,该曲端214在其远端末端具有开口212。在一些实施方式中,神经调节和取样组件102的远端区域206还可设置为与系统100或治疗装置110的其它元件接合。

[0120] 图2B是图2A的神经调节和取样组件102的部分的放大视图。图3是沿图2A中的线3-3的截面端视图。一起参照图2A-3,神经调节和取样组件102可包括由作为神经调节元件200部分的支持结构210携带的一个或多个能量递送元件104(例如,RF电极、超声换能器、冷冻治疗降温组件等)。能量递送元件104,例如,可以是与支持结构210轴向隔开的分离带状电极(例如,沿支持结构210的长度的不同位置处粘合至支持结构210)。在其它实施方式中,神经调节和取样组件201可具有处于轴116的远端部分118处或附近的单一能量递送元件104。

[0121] 在一些实施方式中,所述能量递送元件104由合适导电材料(例如,金属如金、铂、铂铱合金等)形成。所述能量递送元件104的数量、排列、形状(例如,螺旋电极和/或盘绕电极)和/或位置可变化。个体能量递送元件104可通过延伸穿过轴116和/或支持结构210的腔302的导体或双股线300电学连接至控制台132。例如,个体能量递送元件104可被焊接或电学耦合至对应的能量供给线300,并且线300可延伸穿过长轴116的整个长度,从而线300的近末端端耦合至手柄112和/或耦合至控制台132。

[0122] 如图2B的放大剖视图所示,支持结构210可以是管(例如,弹性管)且神经调节和取样组件102可包括位于管内的预成形的控制构件220。展开后,控制构件220可偏压(bias)神经调节和取样组件102的至少部分(例如,神经调节元件200)成为展开状态(图6C或6D)。例如,控制构件220可具有预设构造,其使神经调节和取样组件102的至少部分在展开状态下具有螺旋或旋向构造(图6C或6D)。在一些实施方式中,控制构件220包括管状结构,该管状结构包含镍钛诺多丝绞线,其中贯穿腔222(以商标HELICAL HOLLOW STRAND (HHS) 售卖,并可购自印第安纳州韦恩堡的韦恩堡金属公司(Fort Wayne Metals)。腔222可确定接收导线600的通过路径,该导线600从神经调节和取样组件102的端214处的开口212近端延伸。在其它实施方式中,控制元件220可由不同材料组成和/或具有不同构造。例如,控制构件220可由预形成或预成形为所需展开状态的其它合适形状的记忆材料(例如镍-钛(镍钛诺)、形状记忆聚合物、电活性聚合物)形成。或者,控制构件220可由多种材料(例如一种或多种聚合物和金属的组合物)形成。

[0123] 参考图3(沿图2A中的线3-3的截面端视图),支持结构210可设置为紧密贴合控制构件220和/或线300,以减少支持结构210内部和位于其中的组成之间的空间。

[0124] 例如,控制构件220和支持结构210的内壁可紧密接触,从而在控制构件220 和支持结构210之间没有或几乎没有空间。

[0125] 所述排列可帮助减少或防止神经调节和取样组件102在展开过程中的皱褶 形成。支持结构210可由聚合物材料组成,所述聚合物材料例如聚酰胺、聚酰 亚胺、以商标PEBAX 售卖的聚醚嵌段酰胺共聚物、聚乙烯对苯二甲酸酯(PET)、聚丙烯、脂族、以商标 CARBOTHANE售卖的聚碳酸酯型热塑性聚氨酯、聚醚 醚酮(PEEK) 聚合物,或使支持结构210 具有足够弹性的其它合适材料。

[0126] 曲端214可设置为提供供于导线的出口(例如,通过开口212),其引导导线 离开治疗位置处或附近的脉管壁或腔壁。因此,曲端214可促进神经调节和取 样组件102在所述脉管或腔中的对齐,因为其由递送状态伸展(如图2A中所示)。此外,曲端214可在所述导线的远末端从开口212前进时减小脉管壁或腔壁的 损伤风险。端214的弯曲可视神经调节和 取样组件102的具体尺寸和/或构造和/ 或治疗位置处解剖学而变化。在一些实施方式中, 端214还可包含辐射不透性 标志物和/或一个或多个传感器(未显示)。端214可通过粘附、 褶皱、包覆成型 (over-molding)或其它合适技术附至支持结构210的远末端。

[0127] 所述弹性曲端214可由聚合物材料(例如,以商标PEBAX售卖的聚醚嵌段酰 胺共聚物、热塑性聚醚尿烷材料(以商标ELASTHANE或PELLETHANE售卖)或 具有所需性质的其它合 适材料组成,包括选择的硬度计。如上所述,端214可 设置为提供供于所述导线的开口,并 且希望该端本身在操作时保持所需形状/ 构造。因此,在一些实施方式中,可向所述端材料 添加一种或多种其它材料以 帮助改善端的形状保持度。在一个特定实施方式中,例如,所 述端材料(例如, 热塑性聚醚尿烷材料)可掺混约5-30重量%的硅氧烷,并且可采用电子束 或伽马 辐照来诱导所述材料的交联。在其它实施方式中,端214可由不同材料形成和/ 或 具有不同排列。

[0128] 图4和5是分别沿图2A的线4-4和5-5的截面端视图。一起参考图2A-5,神经 调节和 取样组件102可包括取样口108作为取样元件202的部分。取样口108可与 取样腔400液体连 接,该取样腔400沿轴116从取样口108至手柄112近端延伸。在一些实施方式中,取样腔400 可耦合至真空148或注射器(未显示)以促进通过 取样口108回收样品并沿取样腔400运输 样品。为防止样品污染真空148或注射 器,取样腔400可在沿负压源入口远端的取样腔400 的长度位置处包括单向阀或 密封垫(未显示)。在一些实施方式中,所述取样腔400和/或取 样口区域的内部截 面区域可选择具有贯穿取样口108的足够压差。

[0129] 取样元件202还可包括闭塞构件218(例如,顺应性、半顺应性或非顺应性气 囊、可 伸展的筐、支架样结构等)作为闭塞元件204的部分。闭塞构件218可设置 为至少部分闭塞 脉管(例如,肾动脉)或腔,其中定位有神经调节和取样组件102。在一些实施方式中,闭塞 构件218延伸围绕包含膨胀开口216的轴116的部分。例如,闭塞构件218可以激光结合或通 过其它合适方法分别在远端和近端沿轴 与膨胀开口216隔开的位置附至轴116的外表面。

[0130] 所述膨胀开口216可连接至膨胀腔500,其沿轴116从膨胀开口216至手柄 112近端 延伸。对闭塞元件204和/或闭塞构件218的控制(例如,通过膨胀/展开体 积、膨胀/展开定 时和/或缩小/收缩定时的控制)可以是手动或自动化的(例如,基于预设方案或算法)。基 于所需闭塞(例如,完全、部分等)和/或灌注(例如, 无灌注、控制灌注等)的水平 and 对应于 脉管或腔尺寸的输入值(例如,由预操作 荧光镜成像测量),或其它合适的参数或参数组

(例如,压强、流速、温度等),可使闭塞构件218伸展(例如自动化伸展)成特定、所需的伸展体积和/或外直径。在一些实施方式中,所述闭塞构件218膨胀和/或伸展至所选导致脉管或腔部分 堵塞的水平。部分而非完全堵塞可有利于,例如,减少或防止局部缺血,以便于在取样和/或其它事件后补充生物液体。

[0131] 在一些实施方式中,可提供一个或多个压强传感器224(例如,微流控制器、连续同步的压强传感器、压强管等),从而闭塞构件218自动化地扩展至合适扩展体积而无需在膨胀前输入脉管或腔尺寸。例如,如对于图2C的闭塞构件218的放大顶视图中所示,所述闭塞构件218可与一个或多个压强传感器224完全或部分贴合,所述压强传感器通过一根或多根有弹性的蛇形线226连通,所述蛇形线226设置为带扣和/或适应闭塞构件218的伸展/膨胀和/或缩小。压强传感器224可通过延伸贯穿所述轴的一根或多根线(未显示)电学耦合至手柄112和/或控制台132。控制台132可包含一种或多种可定制的算法,其通过连通线226检测压强传感器上外露压强升高和/或降低(例如,随着闭塞构件218的展开/膨胀和/或缩小),以控制闭塞构件218的膨胀和/或展开。此外,在一些实施方式中,所述闭塞构件218可以不对称形状形成,从而当闭塞构件218完全膨胀和/或展开时,所述脉管或腔不完全阻塞,由此允许灌注。

[0132] 如图5中所示,所述取样腔400和膨胀腔500可以位于轴116的至少靠近腔222的对侧的位置。在其它实施方式中,取样腔400和膨胀腔500可位于支持结构210内。在其它实施方式中,取样腔400、膨胀腔500和腔222可具有其它合适的形状、尺寸和/或排列。

[0133] 本文描述用于根据本技术使用系统100以提供实时或相对同时(例如少于30分钟)的肾神经调节功效反馈的方法的若干实施方式。在一个特定实施方式中,方法包括:(a)通过神经调节和取样组件102的取样元件202在治疗位点收集神经调节前生物样品;(b)测定该神经调节前生物样品中的一种或多种靶生物标志物的基线或神经调节前水平或活性;(c)采用神经调节和取样组件102的神经调节元件200进行神经调节过程;(d)使闭塞构件218展开至至少部分堵塞其中定位有治疗位点的脉管或腔;(e)通过取样元件202在治疗位点处收集神经调节后生物样品;(f)测定一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性;和(g)将神经调节后水平或活性与基线水平或活性做比较,以提供神经调节功效反馈。

[0134] 参考图6A,神经调节和取样组件102的血管内递送可包括:将导线600在进入位点经皮插入脉管系统(例如,股动脉、臂动脉、桡动脉或腋动脉)并沿所述导线移动轴116和神经调节和取样组件102(递送状态)直至神经调节和取样组件102的至少部分到达治疗位置(如图6B所示)。在一些实施方式中,轴116和神经调节和取样组件102可包括腔222(图3-5),其设置为接收沿导线(over-the-wire)或快速交换构造的导线600。如图所示,轴116的近端部分114的部分可由操作者体外定位并操作(例如,通过执行器128)以推进轴116通过有时曲折的血管内路径(P)并远程操作轴116的远端部分118。

[0135] 图像导引,例如,计算断层照相(CT)、荧光镜检、血管内超声(IVUS)、光学相干断层成像术(OCT)、心内超声心动图(ICE)或其它合适的导引形式或其组合,均可用于辅助临床医师定位并操作神经调节和取样组件102。例如,荧光镜检系统(例如,包括平板检测器、x射线或c形臂)可翻转以使精确观察并鉴定目标治疗位点。在其它实施方式中,所述治疗位点可在递送治疗装置110之前,采用IVUS、OCT和/或能够将治疗位点与可鉴定的解剖学

结构(例如,脊柱特征) 相关联的其它合适的成像定位形式和/或辐射不透性标尺(例如,位于所述患者 之下或之上)来定位。此外,在一些实施方式中,图像导引组成(例如,IVUS、OCT)可与治疗装置110整合和/或与治疗装置110并行运行以在神经调节和取样 组件102定位过程中提供图像导引。例如,图像导引组成(例如,IVUS或OCT) 可耦合至治疗装置110的远端部分,以提供接近靶位点的脉管的三维图像,以 利于神经调节和取样组件102在目标肾血管中的定位和展开。

[0136] 一旦神经调节和取样组件102定位在治疗位置,可将导线600至少部分引入(例如,插入)神经调节和取样组件102或从神经调节和取样组件102移出(例如,取出),以将神经调节和取样组件102转换或移动成展开状态。处于展开状态时,例如,可定位神经调节和取样组件102的能量递送元件104使其与脉管或腔的壁 稳定接触以供能量递送,如图6C所示。尽管图6C所示的实施方式显示了展开的 神经调节和取样组件102,其中仅神经调节元件200是旋向或螺旋形的,在其它 实施方式中,神经调节和取样组件102的全部或大部分可以是旋向或螺旋形的。此外,神经调节元件200、取样元件202和/或神经调节和取样组件102的其它部 分可具有其它合适的形状、尺寸和/或构造(例如,弯曲、倾斜、螺旋、旋向、锯齿形、马利科特(Malecot)形等)。

[0137] 在一些实施方式中,神经调节和取样组件102可在导引鞘(未显示)中使用或 不使用导线600而被递送至治疗位点。当神经调节和取样组件102位于治疗位点 时,所述导引鞘可以至少部分取出或缩回,而神经调节和取样组件102可被转 换成展开状态。例如,神经调节和取样组件102的至少部分可具有对应于展开 状态的形状记忆,而所述鞘能阻止神经调节和取样组件102在到达治疗位置之 前响应形状记忆而展开。在其它实施方式中,轴116本身是可控制的,从而神 经调节和取样组件102无需导线600和/或导引鞘的帮助即可被递送至治疗位点。

[0138] 其它合适的神经调节递送构造、展开构造和/或展开机制可鉴于2010年10 月22日提交的美国申请号12/910,631,其标题为“APPARATUS, SYSTEMS, AND METHODS FOR ACHIEVING INTRAVASCULAR, THERMALLY-INDUCED RENAL NEUROMODULATION (用于实现血管内、热诱导的肾神经调节的装 置、系统和方法)”、2011年10月25日提交的美国申请号13/281,361,其标题为 “CATHETER APPARATUSES HAVING MULTI-ELECTRODE ARRAYS FOR RENAL NEUROMODULATION AND ASSOCIATED SYSTEMS AND METHODS (具有多电极阵列的用于肾神经调节的导管装置和相关系统及方 法)”,以及2012年5月5日提交的美国临时申请号61/646,218,其标题为 “MULTI-ELECTRODE CATHETER ASSEMBLIES FOR RENAL NEUROMODULATION AND ASSOCIATED SYSTEMS AND METHODS (用于 肾神经调节的多电极导管组件和相关系统及方法)”,所述文献均通过引用全文 纳入本文。处于展开状态时,神经调节和取样组件102的至少部分能设置为接 触肾动脉的内壁,从而无需重新定位即可造成完全圆周损伤。例如,神经调节 元件200可设置为形成大体完全圆周但通常在治疗位置节段的纵向上非圆周的 损伤或系列损伤(例如,螺旋/旋向损伤或不连续损伤)。这可利于精确且有效的 治疗,其血管狭窄可能性低。在其它实施方式中,神经调节元件200可设置为 在治疗位置的单一纵向节段形成部分圆周损伤或完全圆周损伤。在一些实施方 式中,治疗元件502可设置为造成治疗有效的神经调节(例如,采用超声能量) 而不接触血管壁。

[0139] 在神经调节之前的一个或多个时间点,组件102的取样元件202可在治疗位 点处

或附近收集神经调节前生物样品,以确定一种或多种靶生物标志物的初始神经调节前水平或活性。在一些实施方式中,所述收集的基线样品可从取样口 108通过取样腔400直接输送至分析仪120(例如,当分析仪120整合进入手柄112 时)。分析仪120可设置为分析神经调节前样品,以检测一种或多种靶生物标志物的基线水平。在其它实施方式中,收集的基线样品从取样口108穿过取样腔400被直接输送至控制台132,该输送通过手柄112和控制台132之间的连接器 130和/或分开的收集连接器(未显示)进行。如下文所述,可将所述基线水平或值与神经调节后水平相比较,以评价神经调节的功效。当分析完成时,由分析仪120通过基线分析获得的基线数据可由分析仪120的存储器存储,或在一些实施方式中,所述基线数据可传输(例如通过连接器130和/或无线传输)至控制台132 用于存储和/或处理。此外,所述基线数据可由手柄112上的分析仪显示器(未显示)和/或控制台显示器136显示(图1)。在获得基线数据后,基线样品可从手柄112 中的分析仪120移出,以防污染后续样品。此外,在一些实施方式中,所述分析仪120可设置为分开并存储多于一个样品(例如,减少或消除在收集之间维修 分析仪120的需要)。

[0140] 所述基线值可代表神经调节之前特定时间点处的靶生物标志物水平或活性,或其可代表神经调节之前两个或更多个时间点处的平均水平或活性。在一些实施方式中,所述基线值是神经调节前即刻(即,在患者已被插管之后)的靶生物标志物的水平或活性。或者,特定靶生物标志物的基线值可以衍生自贯穿整个群体或特定亚群的该靶生物标志物的标准值。所述衍生的基线值还可被存储于分析仪120和/或控制台132的存储器中。

[0141] 在神经调节和取样组件102充分定位于脉管或腔内之后,可采用神经调节元件200有目的地组织施加能量或从组织撤销能量,以诱导对肾动脉定位区域和肾丛(RP)邻近区域的一次或多次所需的神经调节作用,所述肾丛紧密位于、邻近或紧密接近肾动脉(RA)的血管外膜。在施加能量的过程中和/或之后,系统 100可检测与神经调节相关联的一种或多种靶生物标志物的水平或活性,并提供实时或相对同时的神经调节功效的反馈。

[0142] 在能量递送或撤消之前、之中和/或之后,由神经调节和取样组件102的闭塞元件204携带的闭塞构件218可膨胀和/或展开以至少部分阻塞治疗位点近侧的脉管或腔,如图6D所示(血流方向由箭头“BF”指示)。在闭塞构件218膨胀和/或展开后,可激活负压源以将神经调节后样品通过取样口108和取样腔400近端取出至治疗装置110的近端部分114(例如,手柄112)。预期治疗位点上游的脉管或腔被堵塞,以分离和/或保持神经调节导致的靶生物标志物释放进入所述脉管或腔。此外,完全或部分闭塞可造成血液在闭塞构件218远侧的脉管或腔内汇集,这利于收集足够的样品大小(例如,1-5cc)用于后续分析。在一些实施方式中,足够的样品大小体积可以是显著较小的(例如,少于约1cc)。例如,取样腔400可包括体内传感器(如下所述)和/或测试元件(如下所述),其可检测少于约1cc的样品体积中的生物标志物水平。因为平均肾动脉包含约1cc的可收集生物样品,所以闭塞构件218可在收集之前保持完全或部分膨胀和/或展开的状态1-5分钟,以允许生物样品在肾动脉中的充分汇集。或者,在一些实施方式中,样品收集可在神经调节过程中或之后进行,而不采用闭塞构件218。在这些情况下,取样元件202可在神经调节元件200的远侧,从而相对于血流在治疗位点下游,由此更可能收集神经调节所得的靶生物标志物。

[0143] 在一些实施方式中,神经调节后样品的收集可包括:使闭塞构件218膨胀和/或展开的重复处理,收集第一批样品量,使闭塞构件218部分缩小以允许灌注肾动脉,然后使闭

塞构件218重新膨胀和/或重新伸展以收集第二批样品量。可采用所述重复处理来收集任何所需数量的样品量直至获得充足的样品体积。如上所述,闭塞构件218的膨胀和缩小可以自动化或手动控制,以获得所需的 堵塞-灌注比。在一些实施方式中,治疗元件502可设置为在治疗位置辐射性地 展开成展开状态504。

[0144] 图7是根据本技术实施方式设置的神经调节和取样组件700的侧视图。如图 所示,神经调节和取样组件700的取样元件可包括取样延伸部分702,其被设置 向远侧延伸进入患者的肾K的叶间脉管IV(例如,叶间动脉(显示)和/或叶间静 脉)。据信相较于动脉血而言,肾K组织可包含较高浓度的靶生物标志物。例如, 在一些实施方式中,取样延伸部分702可包括可滑动定位于取样腔400中的细长 管状轴。取样延伸部分702可在远端部分704处具有取样口706,其设置为定位 在肾的叶间脉管IV中或至少近侧。所述取样延伸部分的近端区域(未显示)可位 于手柄112处,并可操作以使取样延伸部分702的远端部分704移位(例 如,移向 近端、移向远端、弯曲、偏斜等)。例如,在一些实施方式中,可将所述取样延 伸部分延伸和/或缩回,同时闭塞构件218至少部分阻塞肾动脉RA。

[0145] 图8是根据本技术实施方式设置的神经调节和取样组件800的侧视图。图9 是沿图8中的线9-9的截面端视图。一起参考图8和9,神经调节和取样组件102 可包括位于闭塞构件218近端的灌注入口802,位于闭塞构件218远端的灌注出 口804,以及在灌注入口和灌注出口之间延伸的灌注腔900。在一些实施方式中, 可采用增压装置902(推动器或泵)来使血液移动通过灌注入口穿过灌注腔,并通 过灌注出口离开灌注腔。

[0146] 用于将神经调节后样品从取样口108输送至分析仪120并用于分析神经调 节后的装置、系统和方法可以是相同的,如上文关于基线或神经调节前样品所 述。一旦测定神经调节后靶生物标志物水平或活性,与分析仪120、手柄112和 /或控制台132相关联的处理电路即可比较神经调节后生物标志物水平或活性和 基线水平或活性,并提供实时或相对同时的反馈(例如,基于听觉或视觉)至操 作者关于神经调节的功效。例如,用于本文公开方法的靶生物标志物可显示响 应神经调节的水平或活性变化(例如,两倍或更大、三倍或更大、五倍或更大, 或十倍或更大的变化)。如果所述反馈指示神经调节治疗无效,即可重新 激活神 经调节元件200(例如,移位然后重新激活)以进行第二次神经调节。一旦第二次 神经调节治疗完成,可收集额外的神经调节后样品并分析以确定是否继续治 疗。该过程可重复直至治疗位点处获得充分的神经调节。

[0147] 在本文公开方法的一些实施方式中,肾神经调节功效可通过检测单一靶生 物标志物的水平或活性变化来确定。在其它实施方式中,功效通过检测两种或 更多种靶生物标志物的水平或活性变化来评价。在这些实施方式的一些中,如 果各靶生物标志物显示水平或活性变化,则将神经调节归类为成功。在其它实 施方式中,如果靶生物标志物的阈值数或特定子集或组合显示水平或活性变 化,则将神经调节归类为成功。在采用两种或更多种 靶生物标志物的实施方式 中,所述靶生物标志物可以全部是蛋白质、全部是非蛋白质,或 蛋白质和非蛋 白质的组合。

[0148] 用于本文公开方法的靶生物标志物可在预定的神经调节后时间框内显示 水平或活性变化。在某些实施方式中,本文提供的方法允许实时或相对同时地 监测肾神经调节功效。因此,用于本文公开方法的某些靶生物标志物可在神经 调节时或神经调节的相对同时 显示水平或活性变化。例如,在某些实施方式中, 靶生物标志物在神经调节1分钟、2分钟、5

分钟、10分钟、15分钟或30分钟内 显示水平或活性变化。因此,在某些实施方式中,靶生物标志物的神经调节后 水平或活性在神经调节过程中或神经调节的相对同时测定(例如,神经调节1分 钟、2分钟、5分钟、10分钟、15分钟或30分钟内)。在一些实施方式中,在急性 时间框(例如,患者仍处于插管状态和/或麻醉状态)内确定靶生物标志物的神经 调节后水平或活性。或者或除了在神经调节时或相对同时的水平或活性变化以 外,靶生物标志物可在稍后时间点(例如,在慢性时间点)显示水平或活性变化。例如,在某些实施方式中,靶生物标志物在神经调节的2小时、4小时、6小时、8小时、12小时、24小时、48小时、72小时、7天、14天、一个月、两个月、四 个月或一年内显示水平或活性变化。因此,在某些实施方式中,靶生物标志物 的神经调节后水平或活性在神经调节后两小时或更久(例如,神经调节4小时、6小时、8小时、12小时、24小时、48小时、72小时、7天、14天、一个月、两个 月、四个月或一年内)测定。在某些实施方式中,这些稍后时间点的靶生物标志 物水平或活性变化可用于对患者对于神经调节的响应进行评估或分类。所得信 息可用于开发用于确定神经调节对特定患者或亚群是否可能有效的预测模型。

[0149] 在某些实施方式中,本文提供的方法可产生生物反馈评分,该评分为医师 指示神经调节过程成功的可能性。在这些实施方式中,生物反馈评分落在某个 范围可指示该过程可能成功,而评分落在该范围外指示该处理不成功。在其它 实施方式中,本文提供的方法提供对于神经调节过程成功的二元“是或否”指示 器。在这些实施方式中,靶生物标志物或靶生物标志物组的水平或活性的特定 阈值增加或减少可指示神经调节过程的成功。例如,特定阈值变化可指示特定 置信区间(例如,95%或更大,97%或更大,或99%或更大)时神经调节处理成功。在评估神经调节功效时,关于靶生物标志物的水平或活性变化的信息可 与一种 或多种其它参数(例如温度或电阻)组合。例如,可基于所有参数和靶生物标志 物水平或活性变化(简单地作为参数之一)的组合来评价功效。

[0150] 图10是根据本技术设置的神经调节和取样组件1000的另一个实施方式的 正视图。图11是沿图10中的线11-11的截面端视图。一起参考图10和11,神经调 节和取样组件1000可包括一个或多个能量递送元件104。一个或多个取样口 1004可沿神经调节和取样组件1000的支持结构210散布于一个或多个能量递送 元件104之间。如图11所示,控制元件1100的开口中央通道1102可用作导线腔 和取样腔,因此减小神经调节和取样组件1000的递送外型。例如,开口中央通 道1102或共享腔可从神经调节和取样组件1000的端214处的开口212向近端延 伸。

[0151] 支持结构210和控制构件1100可单独分别具有一个或多个开口1004a、1004b,其 可以是圆周的且轴向对齐并密封以在腔体内部和中央通道1102之间 形成通过路径(例如, 取样口1004)。中央通道1102可与负压源(未显示)如注射器 或真空液体连接,从而利于通 过取样口1004和/或远端开口212并通过中央通道 1102收集生物样品。中央通道1102还可 包括单向阀或密封垫1002以减少或防止 对治疗装置110近端部分的污染。例如,在一些实 施方式中,密封垫1002可以 仅在处于充分水平的负压时打开,从而样品收集仅在贯穿神经 调节的指定时间 进行。用于收集和分析生物样品的方法可与上文参考图1-6D所述的那些 相似。

[0152] 图12是说明系统1200的另一个实施方式的部分示意图,其可包括神经调节 装置 1202(例如,导管)和分开的取样装置1204。神经调节装置1202通常与前述 治疗装置110(参

考本文图1-6D)相似。然而,神经调节装置1202在长轴116的远端部分118处不包含取样元件202。与治疗装置110相似,神经调节装置1202可在轴116的远端部分118处包含神经调节元件200。在一些实施方式中,取样装置1204包括取回部分1206、取样元件202、闭塞元件204和在取回部分1206与取样元件202和闭塞元件204之间延伸的长轴1210。在一些实施方式中,所述取样装置1204可不含闭塞元件204。所述长轴1210可设置为将取样元件202和闭塞元件204定位在血管内(例如,在肾动脉内)或在治疗位置处的其它合适的体腔内(例如,输尿管内)。

[0153] 取样装置1204的长轴1210可具有取样腔(未显示),该取样腔从取样元件202的一个或多个取样口(未显示)延伸至收回部分1206。轴1210还可包括膨胀腔500,该膨胀腔500从闭塞元件204的一个或多个膨胀开口216延伸至轴1210的近端部分1208的出口。轴1210的近端部分1208可具有轴适配器1306(例如,鲁尔适配器)(图13A),其设置为接收收回部分适配器1304(例如,鲁尔适配器、管嘴等)(图13A)并与收回部分适配器1304形成密封(例如,液体不透性密封、气体不透性密封等)。图13A说明收回部分1300的一个实施方式,其根据本技术设置。收回部分1300可以是包含中空主体1308和活塞1302的注射器。活塞1302可按箭头A1指示延伸,以将生物样品取回进入并回向取样腔400近端,通过收回部分适配器1304并进入主体1308。活塞1302可以相反方向移动以排出样品。例如,收回部分1300可与轴适配器1306分开,并用于将收集的样品输送至作为控制台132的部分的分析仪120。可压下活塞1302来递送所述样品至分析仪120。在一些实施方式中,收集的样品可被输送至独立分析仪120(未显示)。所述样品可采用上文参考图1-6D所述方法进行分析。

[0154] 图13B说明根据本技术设置的收回部分1310的另一个实施方式,其中收回部分是具有第一口1312和第二口1314的轴心。例如,第一口1312可被设置与取样腔400连接,而第二口1314可被设置与膨胀腔连接。第一口1312还可设置为接收收回装置(例如,注射器、真空等)(未显示)。第二口1314可设置为接收膨胀装置(例如,自动化空气或液体泵)(未显示)。

[0155] 图14说明根据本技术实施方式的神经调节装置1400和取样装置1402同时位于脉管内(例如肾动脉)的另一个实施方式。图15和16是分别沿图14中的线15-15和16-16的截面端视图。一起参考图14-16,取样装置1402的长轴1210可在神经调节装置1400的腔222内可移动定位,并且其中具有取样腔1500。生物样品可通过沿取样装置1402的远端部分定位的一个或多个取样口1404和/或取样装置1402的远端末端处的开口1406收集。所述取样装置1402的远端部分可相对神经调节装置1400向近端或远端移动。在一些过程中,神经调节装置1400可在递送能量(例如,热能、RF能、声能等)至目标组织之前、之中和/或之后相对于脉管充分静止。在一些实施方式中,取样装置1402的远端部分可沿轴移动以获得能量递送时任何位置的样品。

[0156] 图17是根据本技术实施方式的包括可展开构件1702的体内传感系统1700的截面图。构件1702可从缩小的构造移向展开的构造(如图所示)并可包括一种或多种检测剂,其形成外表面1708的至少部分。在一些实施方式中,构件1702是由顺应性材料(例如,硅、弹性聚合物等)制成的气囊形式。连接器1706可使传感器1704耦合至控制台132。传感器1704可设置为检测检测剂和感兴趣的生物指示剂之间的相互作用,所述生物指示剂例如在脉管壁1710的内表面1712上表达的生物分子、响应治疗(例如,融除)而被激活的酶等。例如,

检测剂可包括抗体,所述抗体用于标记或偶联至分泌的或释放的生物分子。在该方式中,生物分子可方便地被捕获。

[0157] 为递送传感系统1700,构件1702可以处于缩小的构造用于采用例如递送鞘的递送。在构件1702处于所需位置之后,其可膨胀和/或展开成所示膨胀的展开的构造。外表面1708可接触壁1710的内表面1712。当构件1702的外表面1708对壁1710压下时,检测剂能够沿壁1710捕获指示剂(例如,生物分子、生物标志物等)。可使构件1702在治疗后接触脉管壁1710至少5分钟、10分钟、20分钟、30分钟或40分钟以允许脉管壁1710上表达所需量的生物分子。在一些实施方式中,传感系统1700可在融除后数天使用。

[0158] 图18是根据本技术实施方式用于体内分析的具有取样组件1808的体内传感系统1800的另一个实施方式的放大部分截面图。取样组件1808包括可展开构件1810、入口导管1816和传感器1804。连接器1802可提供传感器1804和控制台132之间的通信。传感器1804可具有一个或多个光学传感元件、化学传感元件、电学传感元件等,以通过连接器1802发送信号至控制台132。传感器1804经定位以分析流经入口导管1816的血液,并被包含在室1806内。

[0159] 操作时,血液通过入口导管1816向近端流,并流入室1806。生物样品可包括但不限于,响应治疗而分泌或释放的生物分子,或由酶激活而表达的分子。在所示实施方式中,血液可被取回进入室1806以增加室1806中分子的浓度。在一些实施方式中,可使构件1810接触并与动脉壁RA表面上的生物分子相互作用,以产生输出,如联系图17所述。在一些实施方式中,所述生物分子被存储在室1806中用于后续检测,以加强方案并输出生成。

[0160] 可使融除位点M定位于检测元件或阻塞元件1814、1812之间。阻塞元件1814、1812可以是气囊导管形式。例如,阻塞元件1814可以是远端气囊,而阻塞元件1812可以是近端气囊。所示的生物分子可以由脉管壁RA响应融除而释放或分泌的分子。入口导管1816延伸通过开口1812,从而在阻塞元件1814、1812之间包含的生物分子能被提取进入室1806。可使单向阀1818位于室1806和连接器1802之间。为了移出,系统1800可从近端移出检测或阻塞元件1812。

[0161] 在一些实施方式中,取样组件1808包括一个或多个神经调节组件,以进行神经调节和患者感应。所述感应可在神经调节过程之前、之中和/或之后进行。必要时,可额外进行任何次数的神经调节过程。可利用取样组件1808来评估治疗效果。

[0162] 图19是根据本技术实施方式设置的测试元件1900的放大透视图。测试元件1900可设置为测定靶生物标志物的水平或活性,和/或帮助测定收集的样品中的靶生物标志物水平。测试元件1900可具有矩形截面、圆形截面和/或任何合适的形状和/或尺寸。测试元件1900可以是相对二维的(例如,所述测试元件1900的长L、宽W或高H中至少一项小于或等于0.10mm),或在一些实施方式中,所述测试元件是相对三维的。测试元件1900的一个或多个外表面和/或内表面可由检测剂和/或捕获剂被覆和/或浸渍。可将捕获剂或检测剂固定在表面(例如珠、树脂)上,或测试元件1900的一个或多个表面上,和/或测试元件1900的一个或多个表面上的珠或树脂上。合适的树脂的示例包括,例如,疏水树脂、阳离子/阴离子交换树脂(例如,羧甲基、磺丙基/二乙胺)、固定的金属亲和色谱(IMAC)树脂,和极性色谱树脂(例如,硅胶)。在采用表面如珠或树脂的那些实施方式中,所述表面上的所有捕获剂均可对单一靶生物标志物具有特异性。或者,用于多种靶生物标志物的捕获剂或检测剂可

存在于单一表面上,以允许同时检测 并分析多种靶生物标志物。

[0163] 在一些实施方式中,测试元件1900可具有可穿透性(例如,可允许生物样品 流通的滤器、具有可透过性孔的格料等),而在一些实施方式中,测试元件1900 可相对不具有可穿透性但仍提供“粘性”表面,周围的靶生物标志物能被吸引和/ 或附着/吸附至所述表面。图20A是根据本技术设置的“捕获”测试元件2000的实 施方式的一个操作模式的代表性示意图。如图所示,在一些实施方式中,样品 周围的靶生物标志物(T)可附着至被覆在捕获测试元件2000的表面上和/或处于 捕获测试元件2000的基础结构中的检测剂和/或捕获剂(共同标记DC)。图20B是 根据本技术设置的“标记”测试元件2002的实施方式的另一个操作模式的代表性 示意图。如图所示,在一些实施方式中,被覆在标记测试元件2002的表面上 和 /或处于标记测试元件2002基础结构中的检测剂和/或捕获剂(DC)可结合至或粘 附至经过的和/或附近的靶生物标志物(T),从而与标记测试元件2002分开。然 后,试剂DC由结合的靶生物标志物(T)携载,并能够同样地在对于收集的样品 的后续分析过程中被鉴定。在这些或其它实施方式中,还可分析标记测试元件 2002以测定靶生物标志物水平或活性。可在神经调节过程中采用具有不同检测 剂和/或捕获剂的不同测试元件,以评估不同的靶生物标志物。

[0164] 图21显示根据本技术另一个实施方式设置的测试元件2100,其可设置为提 供视觉指示,以指示靶生物标志物水平或活性和/或神经调节功效。例如,测试 元件2100a具有最小量的生物分子或生物标志物覆盖率2102a指示相对低水平的 生物分子或生物标志物。例如,测试元件2100b,具有充足量的生物分子或生 物标志物覆盖率2102b指示相对高水平的生物分子或生物标志物。在一些实施 方式中,测试元件2100c可以是阴性对照。提供视觉指示的测试元件可以可移动 地位于动态流区域内(例如,位于轴116的取样腔400)内和/或 位于具有控制体积 的收集的样品内(例如,位于手柄112中的容器内,位于控制台132中的 容器内, 位于独立容器内,位于手柄112或控制台132中的分析仪内,位于独立分析仪120 内等)。在暴露至样品后,测试元件2100可与收集的样品分离以供视觉检测和分 析,可与收集的样品分离以供在单独装置中分析,和/或保留在收集的样品中用 于分析。

[0165] 在一些实施方式中,如图22A-22D中所示,上述任何测试元件可用于轴116 的取样腔400中(图22A),而在一些实施方式中,所述测试元件可与分析仪120 联用(例如,在手柄112(图22B),和/或控制台132(图22C)、独立分析仪2200(图 22D)中,等),以测定样品中靶生物标志物的水平或活性。在暴露至样品后,所 述测试元件1900可与收集的样品分开以供在独立装置中分析和/或保留在收集 的样品中用于分析。

[0166] 图23是根据本技术实施方式的测试元件组件2300的部分的截面图。测试元 件组件2300包括一个或多个测试元件2304、体外手柄(未显示)和在所述手柄和 所述测试元件2304之间延伸的杆2306。测试元件组件2300可以被可滑动地定位 在治疗装置的取样腔400中(示意性地示于图23,出于示意目的)。可操作组件 2300的手柄(未显示),以沿取样腔400向远端和近端移动杆2306和/或测试元件 2304。取样腔400还可包括单向阀790或密封元件,其允许样品通过所述取样腔 的远端开口2302进入(但不是移出)。因此,所述单向阀防止与测试元件2304整 合的检测剂和/或捕获剂进入血流。

[0167] 在操作中,可向取样腔400施加真空或其它负压源,以造成生物样品通过 开口2302和单向阀790向近端被吸出,并与测试元件2304接触或接近测试元件 2304(例如,捕获

测试元件2000和/或标记测试元件2002)。一旦暴露至样品,测试元件组件2300可以:(a)通过取样腔400向近端取出,以移出并视觉检查测试元件2304(例如,带有视觉指示的测试元件)和/或(b)从近端取出,以移出并输送至单独分析仪,供于在所述单独分析仪上进行分析。在移出测试元件2304的过程中,可将轴116保持定位在患者的脉管(例如,肾动脉)内,或在其它实施方式中,轴116可与测试元件组件2300同时移出。所用的测试元件2304可用新鲜测试元件和/或测试元件组件2300替代,而轴116保持定位在患者的肾动脉内。在一些实施方式中,采用标记测试元件,所标记的生物样品可通过取样腔400向近端取出(在暴露至所述标记测试元件之后)至体外位置。经标记样品的分析可类似于上文参考图1-6D所述那样。

[0168] 如图23和24一同所示,与测试元件组件2300一起使用的测试元件2304可具有任何合适的形状、尺寸和/或方向,以捕获和/或标记经过的和/或附近的样品。例如,在图23中,测试元件2304的外截面积大约等于或稍大于取样腔400的内截面积。图24中的测试元件2304可具有相对短的轴长度。图24显示具有相对长的轴长度和小于取样腔400的外截面积的测试元件2304,从而测试元件2304表面和取样腔400的内表面之间存在空间。测试元件2304通常可以是板形(图24)、圆筒形(图23)或供于与通过和/或附近的样品接触的任何合适形状。

[0169] 图25显示根据本技术另一实施方式设置的测试元件组件2500,其可包括位于沿杆2508和/或取样腔400的不同位置处的多于一个测试元件,如图所示。在一些情况中,多种测试元件可彼此隔开,以允许血液顺序流通所述测试元件。第一测试元件2502和第二测试元件2504可同时暴露至样品,而在一些实施方式中,测试元件组件2500可包括屏蔽元件2506,该屏蔽元件2506设置为选择性地暴露全部或部分个体测试元件。例如,测试元件组件2500可具有供于第一样品的第一测试元件2502和供于第二样品的第二测试元件2504。如图25中所示,第二测试元件2504可位于屏蔽元件2506内,从而移动通过取样腔400的样品可与第一测试元件2502接触但不与第二测试元件2504接触(例如,以测定第一检测,以测定神经调节前靶生物标志物水平等)。随后,可将屏蔽元件2506向近端移动(见箭头A2)以使第二测试元件2504暴露至附近的样品(例如,以测定第二检测,以测定神经调节后生物标志物水平等)。在一些实施方式中,第一测试元件2502可独立于第二测试元件2504而从取样腔400移出,而在其它实施方式中,第一测试元件2502和第二测试元件2504可同时移出。此外,第一测试元件2502和第二测试元件2504可沿相同杆或一个或多个分开的杆(未显示)定位。

[0170] 在一些实施方式中,测试元件和/或测试元件组件可用于体内生物标志物分析。例如,测试元件组件可具有传感器(未显示),其可测定靶生物标志物是否已偶联至测试元件,该测定基于例如比色信号、荧光、能量变化(例如,热转移)、电刺激等的至少部分。所述传感器(未显示)可通过连接器130(例如经焊接、焊补、弯皱和/或其它方式连接至轴116的信号线)向控制台132发送信号。连接器130可延伸通过治疗装置110的近端部分114上方的轴116,其中其可以合适于神经刺激的信号处理装置形式被可操作地连接至控制台132。例如,控制台132可包括NIM-ResponseTM神经完整监测器("NIM")(可获自佛罗里达州杰克逊维尔的美敦力施美德公司(Medtronic Xomed))。在其它实施方式中,连接器130包括一根或多根光纤,其从传感器(未显示)和/或与检测剂相互作用的生物分子发送输出/信号至

控制台132。

[0171] 在其它实施方式中,所述测试元件组件可具有多层结构。各层可具有不同检测剂以标记不同生物分子。在其它实施方式中,所述测试元件组件具有单层结构。可增大或减小沿轴116的纵轴方向的测试元件的长度以控制所述样品与所述测试元件接触的时间长短。

[0172] 参考图26A和26B,在一些实施方式中,测试元件2600可包括检测零件2602(例如,孔、传感器、储蓄器等)的阵列。如图26B中所示,基质2604可具有弹性以弯曲并嵌合进入相对小的腔,但保持足够大的表面积供于检测零件2602。在一些实施方式中,检测零件2602可包括含有一种或多种检测剂和/或捕获剂(例如,标记物)的储蓄器。可使用任何合适数量的检测零件2602和图案及构造。

[0173] 在一些实施方式中,所述测试元件组件的一个或多个测试元件可彼此叠放以递送一系列标记物至其中通过和/或附近的样品,和/或使个体测试元件的选择区域暴露至附近样品。例如,如图27A和27B所示,测试元件组件2700可具有第一测试元件2600a和第二测试元件2600b。当允许样品流入取样腔400时,仅第一测试元件2600a上的检测零件2602a将被暴露至所述样品。第一测试元件2600a可独立于第二测试元件2600b从取样腔400移出,由此使第二测试元件2600b的先前被覆的检测零件2602b暴露。例如,第一测试元件2600a可用于测定基线或神经调节前生物标志物水平,而第二测试元件2600b可用于测定神经调节后生物标志物水平。

[0174] III. 用于监测神经调节的方法的选择示例

[0175] 如上所述,本技术涉及通过检测与神经调节相关联的一种或多种靶生物标志物的水平或活性变化来监测神经调节功效的方法和过程的多种实施方式。与多种传统方法不同,预计本文公开的方法允许实时或相对同时地监测神经调节功效。本文还提供通过检测与神经调节相关联的一种或多种靶生物标志物的水平或活性变化来监测非肾神经调节功效的方法和过程。下文所述的方法和技术可采用参考图1-27B的上述系统之一或其它合适系统来进行。

[0176] 如前所述,本文公开的方法可用于确定神经调节过程是否成功,即,所述过程是否导致一条或多条靶神经的部分或完全失能或有效干扰。例如,在某些实施方式中,这些方法包括(a)测定一种或多种靶生物标志物的基线水平或活性;(b)进行神经调节过程;(c)测定所述一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性;和(d)将所述神经调节后水平或活性与基线水平或活性做比较,其中如果神经调节后水平或活性与基线水平或活性具有显著差异,则将神经调节过程归为成功。在某些实施方式中,水平或活性的显著差异指1%或更大的差异,例如2%或更大、3%或更大、4%或更大、5%或更大、10%或更大、20%或更大,或50%或更大的差异。在其它实施方式中,水平或活性的显著差异指,2倍或更大的差异,例如3倍或更大、4倍或更大,或5倍或更大的差异。

[0177] 在其它实施方式中,这些方法包括(a)进行神经调节过程;(b)测定一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性;和(c)将所述神经调节后水平或活性与预定的阈值水平或活性做比较,其中若神经调节后水平或活性高于预定阈值水平或活性,则将该神经调节过程归为成功。而在其它实施方式中,这些方法包括(a)进行神经调节过程;(b)测定一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性;和(c)将所述神经调节后水平或活性

与预定水平或活性范围做比较,其中若神经调节后水平或活性落在预定的水平或活性范围内,则将该神经调节过程归为成功。在某些实施方式中,测定急性时间框(例如去神经后的30分钟或更短时间)内的神经调节后靶生物标志物水平或活性,由此允许在对象仍处于插管状态时评估神经调节功效。然而,在其它实施方式中,可在慢性时间框(例如,在去神经之后数小时、数天、数周或数月)中检测神经调节后靶生物标志物水平或活性。

[0178] 在某些实施方式中,本文提供的方法包括(a)测定一种或多种靶生物标志物的基线水平或活性,(b)通过神经调节组件至少部分抑制对象肾神经中的交感神经活性(如下文详述),(c)测定所述一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性,和(d)将神经调节后水平或活性与基线水平或活性做比较,其中若神经调节后水平或活性与基线水平或活性具有显著差异,则将该神经调节过程归为成功。

[0179] 本文还描述了根据本技术测定患者中的生物标志物活性的方法的若干实施方式。在某些这些实施方式中,这些方法包括(a)将导管的能量递送元件经腔定位(transluminally positioning)在患者靶血管内邻近靶神经纤维处,(b)通过所述能量递送元件至少部分融除靶神经纤维,(c)在所述导管的捕获隔室中捕获多数的至少一种生物标志物类型,其中所述生物标志物因融除处理而分泌,(d)隔离所述捕获隔室中的所述多数的至少一种生物标志物类型,以浓缩所述生物标志物,(e)使所述生物标志物结合至所述捕获隔室的内表面上安排的至少一种固定的捕获剂,和(f)检测所述生物标志物的浓度,其中所述浓度至少部分对应于靶神经纤维的融除程度。与本文公开方法联用的一种或多种靶生物标志物可以是在以所需方式神经调节之后显示水平或活性的定量和可检测变化的任何生物分子。在某系实施方式中,靶生物标志物可以是蛋白质或其片段。在这些实施方式中,蛋白质水平的变化可指表达(如通过mRNA或蛋白质水平检测)或分泌变化。在其它实施方式中,靶生物标志物可以是小分子、肽或其它非蛋白质化合物。某些实施方式中提供包含用于本文公开方法的一种或多种靶生物标志物的组合物和试剂盒。

[0180] 在采用蛋白质靶生物标志物的那些实施方式中,所述靶生物标志物可以是表示细胞死亡、凋亡、代谢调结、氧化应激或神经-内皮相互作用通路的一种或多种蛋白质,或者神经调节、激素调节、神经元应激反应、神经元再生、内皮血管舒张或血管收缩、传出和传入交感活性调节或儿茶酚胺生成调节中涉及的蛋白质。可作为靶生物标志物本文公开方法联用的蛋白质的特定种类包括但不限于:内皮缩血管肽、神经营养因子、血管收缩蛋白、细胞表面受体、热激蛋白或经修饰的热激蛋白、分泌的炎性细胞因子或趋化因子,以及来自肾-血管收缩素系统的蛋白质。用于本发明方法的蛋白质靶生物标志物可以是细胞表面蛋白、分泌的蛋白质或胞内蛋白。在某些这些实施方式中,所述蛋白质可以是血管壁上表达的细胞表面受体、显示融除后分泌水平升高或降低的分泌蛋白质,和/或显示融除后活性增大或减小的酶(参见,例如图28)。

[0181] 如前所述,在采用非蛋白质靶生物标志物的那些实施方式中,所述靶生物标志物可以是小分子,例如儿茶酚胺或其它神经递质(尤其是与交感神经活性相关联的那些)例如NE、NPY、肾上腺素或多巴胺、分泌的激素或其它可溶性内分泌分子或分泌的代谢物或细胞碎片。

[0182] 在本文公开方法的某些实施方式中,在神经调节位点处或附近(例如,在融除位点处或附近)出现靶生物标志物水平或活性变化。在这些实施方式中,可检测神经调节位

点处或附近的变化,或来自神经调节位点处或附近获得的生物样品中的变化。例如,当在肾处或附近(例如,在肾动脉内)进行神经调节时,可检测从该肾处或附近获得的生物样品中的靶生物标志物水平或活性变化。本文所用的“生物样品”可指可能包含一种或多种靶生物标志物的任何体液(例如,血液、血浆、尿液等)或组织。因此,从所述肾处或附近获得的生物学样品可以是来自肾动脉、深静脉或肾脏系统中他处的血液或组织。与肾神经调节相关联的靶生物标志物可显示任何或全部这些位置处的表达或活性变化。或者除局部可检测的水平或活性变化以外,在某些实施方式中,所述靶生物标志物可显示远离所述神经调节位点的位置处的水平或活性变化。在这些实施方式中,靶生物标志物收集可全身性地进行,例如通过收集血液或尿液样品。在某些实施方式中,局部靶生物标志物收集可优于全身性收集,因为这相较于全身性收集而言提供靶生物标志物的较高浓度并且可允许更快速或准确的结果。在其它实施方式中,在局部收集和全身性收集之间没有优先选择,或优选全身性收集(例如由于便于收集)。

[0183] 用于本文公开方法的靶生物标志物可显示与神经融除相关的水平或活性变化,和/或NE水平(例如肾中的神经融除和/或NE水平)的变化。在某些实施方式中,靶生物标志物的水平或活性变化可能是神经调节的直接结果(例如,直接响应神经元损伤)。在某些实施方式中,靶生物标志物可显示因血管-神经元相互作用(例如参见图29)所致的活性或水平变化。例如,靶生物标志物可以是基于内皮的靶生物标志物、血管收缩剂、血管舒张剂、神经调节剂、神经营养因子、儿茶酚胺或信号转导分子如ATP、神经递质的血管响应剂,或显示作为神经调节的直接结果的水平升高或降低的钙。靶生物标志物水平或活性的变化可指示作为轴突损伤、轴突应激或轴突切除(axotomy)结果的物质例如小分子(如钙)或神经递质的突触排出。例如,交感去神经可导致排出肾中突触末端处存储的NE、NPY或多巴胺,导致可从肾动脉或静脉血液或他处(如全身血液或尿液)收集并检测的激增物。在其它实施方式中,靶生物标志物的水平或活性变化可以是对神经调节过程(例如,参见图30)的间接/替代反应。例如,靶生物标志物可以是蛋白质,例如炎性或抗炎性通路、热激反应通路,或应激反应通路的蛋白质,所述蛋白质显示响应RF暴露或融除位点处或附近的温度变化而水平或活性变化。

[0184] 在本文公开方法的某些实施方式中,肾神经调节功效可通过检测单一靶生物标志物的水平或活性变化来监测。在其它实施方式中,功效通过检测两种或更多种靶生物标志物的水平或活性变化来监测。在这些实施方式的某些中,如果各靶生物标志物显示水平或活性变化,则将神经调节归类为成功。在其它实施方式中,如果靶生物标志物的阈值数或特定子集或组合显示水平或活性变化,则将神经调节归类为成功。在采用两种或更多种靶生物标志物的那些实施方式中,所述靶生物标志物可以全部是蛋白质、全部是非蛋白质,或蛋白质和非蛋白质的组合。

[0185] 在本文公开方法的某些实施方式中,靶生物标志物的基线水平或活性源自经历神经调节的对象。例如,可检测神经调节前的一个或多个时间点的对象中的靶生物标志物水平或活性。所述基线值可代表神经调节之前特定时间点处的靶生物标志物水平或活性,或其可代表神经调节之前两个或更多个时间点处的平均水平或活性。在某些优选实施方式中,所述基线值基于神经调节前即刻(即,在对象已被插管之后)的靶生物标志物的水平或活性。或者,特定靶生物标志物的基线值可以衍生自贯穿整个群体或特定亚群的该靶生

物标志物的标准值。在某些实施方式中,靶生物标志物的基线水平或活性采用与后续用于测定该靶生物标志物神经调节后水平或活性的相同方法测定。在某些实施方式中,靶生物标志物水平或活性的变化基于基线水平或活性和神经调节后水平或活性之间的差异来计算。例如,靶生物标志物表达水平的差异(Δ)可以是神经调节前和神经调节后特定时间点的靶生物标志物表达之间的差异。

[0186] 用于本文公开方法的靶生物标志物可显示响应神经调节的水平或活性的两倍或更大变化。例如,靶生物标志物可为显示神经调节后的两倍或更大表达或分泌变化的蛋白。在这些实施方式的某些中,靶生物标志物显示响应神经调节的水平或活性的三倍或更大、五倍或更大,或十倍或更大的变化。

[0187] 在某些实施方式中,用于本文公开方法的靶生物标志物在预定的神经调节后时间框内显示水平或活性变化。在某些实施方式中,本文提供的方法允许实时或相对同时地监测神经调节功效。因此,用于本文公开方法的某些靶生物标志物可在神经调节时或神经调节的相对同时显示水平或活性变化。例如,在某些实施方式中,靶生物标志物在神经调节1分钟、2分钟、5分钟、10分钟、15分钟或30分钟内显示水平或活性变化。因此,在某些实施方式中,靶生物标志物的神经调节后水平或活性在神经调节过程中或神经调节的相对同时测定(即,神经调节1分钟、2分钟、5分钟、10分钟、15分钟或30分钟内)。在优选实施方式中,在急性时间框(即,患者仍处于插管状态和/或麻醉状态)内确定靶生物标志物的神经调节后水平或活性。或者或除了在神经调节时或相对同时的水平或活性变化以外,靶生物标志物可在稍后时间点(例如,在慢性时间点)显示水平或活性变化。例如,在某些实施方式中,靶生物标志物在神经调节的2小时、4小时、6小时、8小时、12小时、24小时、48小时、72小时、7天、14天、一个月、两个月、四个月或一年内显示水平或活性变化。因此,在某些实施方式中,靶生物标志物的神经调节后水平或活性在神经调节后两小时或更久(即,神经调节2小时、4小时、6小时、8小时、12小时、24小时、48小时、72小时、7天、14天、一个月、两个月、四个月或一年内)测定。在某些实施方式中,这些稍后时间点的靶生物标志物水平或活性变化可用于对患者对于神经调节的响应进行评估或分类。所得信息可用于开发用于确定神经调节对特定患者或亚群是否可能有效的预测模型。

[0188] 本文公开方法可用于监测采用不同合适技术进行的神经调节的功效。如上所述,例如,可在治疗过程中于一个或多个合适治疗位置处经电学诱导、热诱导、化学诱导或以其它合适方式或多种方式组合诱导神经调节。例如,神经调节可通过:递送单极或双极无线电频率(RF)能量、微波能量、激光或光能、磁、超声能量(例如,血管内递送超声、体外超声、高频超声(HIFU))、直接热能和/或冷冻治疗能量至治疗位置处的目标组织来诱导治疗位置处的一种或多种所需作用。治疗位置可以是神经调节的一根或多根神经近侧的位置。在一些实施方式中,所述治疗位置在脉管或其它体腔内或附近。例如,用于肾神经调节的治疗位置可在肾动脉处或附近。在某些实施方式中,靶生物标志物的鉴定可视所用神经调节方法而不同。例如,采用RF能量的神经调节可导致与冷冻治疗不同组的靶生物标志物水平或活性变化。在其它实施方式中,特定靶生物标志物或靶生物标志物的组可以有效于监测贯穿神经调节技术范围的功效。

[0189] 在某些实施方式中,可在直接或间接受益于神经调节的共同患病率的预后中利用靶生物标志物水平或活性变化。在其它实施方式中,靶生物标志物水平或活性的变化可

用于预测对象对神经调节的反应。

[0190] 对基线和/或神经调节后靶生物标志物水平或活性的测定可采用任何先前已知的方法和/或本文公开的方法进行。在一些实施方式中,例如,对靶生物标志物水平或活性的测定采用产生神经调节后急性时间框中结果的检测方法。当靶生物标志物是分泌型或细胞表面生物分子时,对靶生物标志物水平或活性的测定可采用一种或多种捕获剂或检测剂。当靶生物标志物是胞内生物分子时,对靶生物标志物水平或活性的测定可采用成像技术/分光镜检技术,其允许以非侵入方式评估水平或活性。在其它实施方式中,胞内靶生物标志物的水平或活性可能需要组织取样。

[0191] 在某些实施方式中,对基线或神经调节后靶生物标志物水平的测定可采用如下物质进行:与该靶生物标志物特异性结合的一种或多种捕获剂,例如抗体或其表位结合片段(参见,例如图31;标记的抗体结合动脉壁(上图)或分泌的(下图)靶生物标志物)、该靶生物标志物的配体、以该靶生物标志物作为配体的受体、与编码该靶生物标志物的mRNA序列互补的核酸,或与靶生物标志物特异性结合的任何其它试剂。在这些实施方式中,基于与捕获剂的结合来检测靶生物标志物。

[0192] 靶生物标志物的迹象或神经调节后活性的测定可采用具有与该靶生物标志物相互作用的功能的检测剂进行,所述检测剂例如,该靶生物标志物的底物或以该靶生物标志物作为底物的酶或催化抗体(例如,参见图31;剪刀代表能够切割靶生物标志物的酶促检测剂)。在这些实施方式中,基于特定功能(例如,底物转化)的存在检测靶生物标志物活性。或者,靶生物标志物活性的测定可采用对该靶生物标志物的酶促产物或副产物具有特异性的捕获剂进行。

[0193] 用于测定靶生物标志物活性的捕获剂或检测剂可以是溶液形式,或其可固定在表面上如珠、树脂,或神经调节或其它治疗装置、其组成或分开的捕获装置的一个或多个表面上。合适的树脂的示例包括,例如,疏水树脂、阳离子/阴离子交换树脂(例如,羧甲基、磺丙基/二乙胺)、固定的金属亲和色谱(IMAC)树脂,和极性色谱树脂(例如,硅胶)。在采用表面如珠或树脂的那些实施方式中,所述表面上的所有捕获剂均可对单一靶生物标志物具有特异性。或者,用于多种靶生物标志物的捕获剂或检测剂可存在于单一表面上,以允许同时检测并分析多种靶生物标志物。在其中捕获剂或检测剂固定在治疗装置、其组成或分开的捕获装置的一个或多个表面上的那些实施方式中,所述捕获剂或检测剂可以在所述装置的外侧,即,与动脉血液或动脉壁直接接触。在其它实施方式中,所述捕获剂或检测剂可在内表面上,例如导管或捕获隔室的内部。

[0194] 在某些实施方式中,靶生物标志物与捕获剂的结合和/或靶生物标志物与检测剂的相互作用导致可定量的信号。该可定量的信号可以是,例如,比色信号、荧光信号、热信号、能量信号或电信号。在某些实施方式中,该信号可被转换成外部视觉输出装置(例如,参见图32)。在某些实施方式中,捕获剂或检测剂可带标记,例如带有酶或放射性标记。捕获剂或检测剂可以是第二捕获剂(例如经标记的抗体)的结合底物。

[0195] 在某些实施方式中,靶生物标志物与捕获剂的结合导致可被转换至外部监测装置的信号。例如,靶生物标志物与捕获剂或检测剂的结合可采用高灵敏度荧光技术检测,所述高灵敏度荧光技术例如能量共振转移法(例如,福斯特(Forster)能量共振转移、生物发光能量共振转移,或表面等离子能量共振转移)。图33说明基于靶生物标志物与亲和配

体捕获剂(例如,抗体、肽、小分子药物或抑制剂)的结合产生信号的量子点实施方式。量子点是纳米级的半导体晶体,其在用合适频率的光激发后发出荧光(例如,参见Xing Nat Protoc 2:1152(2007))。发出的光通过纳米晶体尺寸和从近红外至紫外范围的激发频率调谐。已经证明采用近红外的辐射在动物中通过皮肤的动态可视化。在本文公开方法的某些实施方式中,对基线和/或神经调节后靶生物标志物水平或活性的测定采用任何基于免疫测定的方法进行。例如,靶生物标志物水平可采用电化学免疫传感器(例如,参见图34)来测定,其提供浓度依赖性信号(参见,例如,Centi Bioanalysis 1:1271(2009); Rusling Analyst 135:2496(2010))。用于基于免疫测定来测定靶生物标志物水平或活性的抗体可以带标记或不带标记。

[0196] 在一些实施方式中,对于基线和/或神经调节后靶生物标志物水平或活性的测定可在体内进行。例如,所述测定可采用与用于进行神经调节相同的装置或附至治疗装置的组成进行。或者,对于靶生物标志物水平或活性的测定可采用分开的装置进行。在这些实施方式的某些中,可通过与递送治疗装置所用相同的导管将所述分开的装置递送至神经调节位点。然而,在其它实施方式中,离体进行对于基线和/或神经调节后靶生物标志物水平或活性的测定。

[0197] 在一些实施方式中,靶生物标志物和捕获剂或检测剂之间的相互作用在神经调节位点处或附近(例如,在肾动脉附近)发生。在这些实施方式的某些中,靶生物标志物在血流中或在动脉壁表面处与捕获剂或检测剂结合。在这些实施方式中,捕获剂或检测剂可以在溶液(即,在血流中)或被固定至与血流和/或动脉壁接触的表面。例如,其中整合有捕获剂或检测剂的装置或其组成可以是被覆有一种或多种检测分子的气囊,其膨胀以接触融除的动脉壁(例如,参见图35,下图)。捕获的靶生物标志物可在体内被检测,或所述基于气囊的装置可被移出以供靶生物标志物的离体检测。

[0198] 然而,在其它实施方式中,靶生物标志物和捕获剂或检测剂之间的相互作用可在远离神经调节位点处发生。例如,可将靶生物标志物从神经调节位点移出,然后隔离在捕获隔室中(例如,参见图35,上图)。在采用捕获隔室的那些实施方式中,所述捕获隔室可在体内或离体定位。在这些实施方式的某些中,所述捕获隔室可在初始时位于体内,然后从身体移出供于分析(即,在与捕获剂或检测剂接触之前从身体移出)。在某些实施方式中,可使靶生物标志物与捕获隔室内的捕获剂或检测剂接触。在其它实施方式中,与捕获剂或检测剂的接触可在将生物样品从捕获隔室移出后发生。在某些实施方式中,可在与捕获剂或检测剂接触之前或同时浓缩靶生物标志物。在采用捕获隔室的那些实施方式中,浓缩可在捕获隔室中进行,或在生物样品从捕获隔室移出后进行。在某些实施方式中,靶生物标志物的浓缩可采用整合在捕获装置或捕获隔室内的一个或多个滤器进行。例如,可选用位于捕获隔室远端末端的第一滤器,从而其允许靶生物标志物通过进入捕获隔室但防止其它生物标志物通过。可选用位于捕获部分近端末端的第二滤器,从而其防止靶生物标志物通过离开捕获隔室但允许血液流出该捕获隔室。通过采用一个或多个滤器,靶生物标志物可在捕获隔室中被浓缩。或者除采用滤器以外,可采取一个或多个其它步骤来浓缩捕获隔室中或从该捕获隔室移出后的靶生物标志物。例如,靶生物标志物可采用珠来浓缩。

[0199] 靶生物标志物检测方法和装置的示例性的实施方式示于图36。在该实施方式中,采用基于导管的捕获装置从融除位点附近处捕获包含分泌的靶生物标志物A和B的血液样

品(图36A),这将在下文中更详细地描述。该捕获步骤导致将所述靶生物标志物隔离在捕获隔室中,其中所述生物标志物被浓缩。所述靶生物标志物与固定在上捕获隔室的内表面上的一种或多种捕获试剂结合(图36B)。所述靶生物标志物与固定的捕获剂的结合导致信号,该信号通过输出生成器被转导至离体装置(图36C)。用于进行这些和其它实施方式的此类装置的示例参考图1-27B在上文中有更详细的描述。

[0200] 在某些实施方式中,本文提供的方法可产生生物反馈评分,该评分为操作者指示神经调节过程成功的可能性。例如,生物反馈评分落在某个范围可指示该处理可能成功,而评分落在该范围外指示该处理不成功(例如,参见图37)。在其它实施方式中,本文提供的方法提供对于神经调节过程成功的二元“是或否”指示器。在这些实施方式中,靶生物标志物或靶生物标志物组的水平或活性的特定阈值增加或减少指示神经调节过程的成功。在这些实施方式的某些中,特定阈值变化指示神经调节过程的成功特定置信区间(例如,95%或更大,97%或更大,或99%或更大)。在一些实施方式中,在评估神经调节功效时,关于靶生物标志物的水平或活性变化的信息可与一种或多种其它参数(例如温度、神经信号数据或电阻)组合。此外,可基于所有参数和靶生物标志物水平或活性变化(简单地作为参数之一)的组合来评价功效。

[0201] 例如,如下文实施例1中所述,于体内筛选一组候选蛋白质靶生物标志物,以鉴定在融除后不同时间点处显示表达水平变化的蛋白质。这导致鉴定出一组分泌的、细胞表面和胞内蛋白质靶生物标志物,所述靶生物标志物在融除后10分钟、24小时和7天时显示表达水平的升高或降低。

[0202] 在融除10分钟内上调的分泌的蛋白质靶生物标志物的示例包括脑源性神经营养因子(BDNF)、降钙素相关多肽 β (CALCB,CGRP)、CD40L配体(CD40L,CD40LG)、凝聚素(CLU)、内皮素-3(EDN3)、白介素10(IL-10)和激肽释放酶B1(KLKB1)。在融除10分钟内上调的细胞表面蛋白靶生物标志物的示例包括选择蛋白E(SELE)和DnaJ(Hsp40)同源物超家族A成员4(DNAJA4)。在融除10分钟内上调的胞内蛋白靶生物标志物的示例包括BTG2家族成员2(BTG2)、DNAJA4、DnaJ(Hsp40)同源物超家族B成员1(DNAJB1)、FBJ鼠骨肉瘤病毒癌基因同源物(FOS)、热激27kDa蛋白1(HSPB1)、热激60kDa蛋白1(HSPD1),和热激105kDa/110kDa蛋白1(HSPH1)。

[0203] 在融除24小时内上调的分泌的蛋白质靶生物标志物的示例包括骨形态发生蛋白7(BMP7)、IL-10、肿瘤坏死因子受体超家族成员1B(TNFRSF1B)和白血病抑制因子(LIF)。融除24小时内上调的细胞表面蛋白靶生物标志物的示例包括ATP酶/Na/K转运 α 1多肽(ATP1A1)、内皮素受体B型(ETB,EDNRB)、整联蛋白 α M(ITGAM,CD11b)、溶质运载蛋白家族2(易化扩散的葡萄糖/果糖转运体)成员5(SLC2A5/GLUT5)、SELE、Toll样受体4(TLR4),和TNFRSF1B。融除24小时内下调的表面蛋白靶生物标志物的示例包括黑皮质素2受体(MC2R)。融除24小时内上调的胞内蛋白靶生物标志物的示例包括血红素氧化酶(解环)1(HMOX-1)、热激70kDa蛋白5(HSPA5)、HSPD1、HSPH1、ATP1A1和超氧化物歧化酶2(SOD2)。

[0204] 融除7天内上调的分泌蛋白靶生物标志物的示例包括利尿钠肽B(BNP)、CD40L、CLU、Fas配体(FASLG)、IL-10、TNFRSF1B和LIF。融除7天内下调的分泌蛋白靶生物标志物的示例包括神经营养因子3(NTF3)。融除7天内上调的细胞表面蛋白靶生物标志物的示例包括ATP1A1、EDNRB、ITGAM、嘌呤受体P2Y G-蛋白偶联的12(P2RY12)、SELE、SLC2A5/GLUT5、

To11样受体3 (TLR3)、TLR4、To11样受体7 (TLR7),和TNFRSF1B。融除7天内下调的细胞表面蛋白靶生物标志物的示例包括肾上腺素 α 2B受体 (ADRA2b)。融除7天内上调的胞内蛋白靶生物标志物的示例包括CDKN2B (p15)、HMOX-1、热激70kDa蛋白14 (HSPA14)、ATP1A1和HSPD1。融除7天内下调的胞内蛋白靶生物标志物的示例包括CDKN1B (p27)。

[0205] 如下文实施例2中所述,体外筛选一组候选蛋白质靶生物标志物,以鉴定在接触热、炎症或其结合之后1分钟、5分钟和10分钟时显示表达水平或分泌水平变化的蛋白质。这导致鉴定出在融除后1分钟、5分钟或10分钟时显示表达或分泌水平升高的一组蛋白质靶生物标志物。显示表达增加的蛋白质靶生物标志物的示例包括半胱天冬酶10 (CASP10)、CCL13 (MCP4)、CCND1、CD70、 α B 晶体 (CRYAB)、CPS1、DNAJB1、DNAJB11、热激70kDa蛋白1A (HSPA1A)、热激70kDa蛋白1B (HSPA1B)、热激蛋白B6 (HSPB6)、IL-10、KIT、淋巴霉素 α (LTA)、肌球蛋白轻链激酶3 (MYLK3)、NODAL、NPY1R、POU1F1和TCP-1- α (TCP1)。显示分泌增多的蛋白质靶生物标志物的示例包括肌动蛋白、胞质 (ACTA2)、S100钙结合蛋白A6 (CACY/2A9)、丝切蛋白-1 (CFL1)、蛋白 cTAGE-2 (CTAG1A1/CTAG21)、L-乳酸脱氢酶 (LDHA)、跨膜蛋白141 (MGC141/TMEM141)、N- α -乙酰基转移酶20 (NAA20/NAT5)、二磷酸核苷激酶 B (NM23B)、植烷酰-CoA脱氧酶、过氧化物酶 (PAHX/PHYH1)、前折叠素亚基1 (PFDN1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (PLK-2)、微管蛋白 α -1B-链 (TUBA1B) 和波形蛋白 (VIM)。

[0206] 如实施例2中进一步所述,通过用热、炎症或其组合处理一组神经元细胞,然后用神经元细胞分泌组 (即,来自热/炎症处理的神经元细胞的条件培养基) 处理一组内皮细胞,来筛选一组候选蛋白质靶生物标志物。该条件培养基包含神经元蛋白质和非蛋白质应激因子,其显示在热/炎症治疗后的分泌增多。或者,所述内皮细胞用重组因子直接处理,所述重组因子包括亲神经因子或血管增生因子 (例如,BDNF、FGF5)。显示在第二组细胞中表达增多的蛋白质靶生物标志物的示例包括突触核蛋白 α (SNCA)、BDNF、睫状神经营养因子 (CNTF)、成纤维细胞生长因子2 (基础) (FGF2)、胶质细胞源性因子2 (基础) (GDNF)、 β 神经生长因子2 (NGF2)、神经营养因子-3 (NTF3)、PF4、EDN2、ACE2、干扰素 γ (IFN- γ)、青蒿琥酯 (artemin) (ARTN)、LIF、小脑肽1前体 (CBLN1)、神经调节素1 (NRG1)、神经调节素2 (NRG2)、神经调节素4 (NRG4)、帕瑟素 (Persephin) (PSPN)、NTF4和转化生长因子 α (TGFA)。

[0207] 如下文实施例3中所述,将体内筛选另一组蛋白质和非蛋白质候选物靶生物标志物,以鉴定在融除后不同时间点处显示肾动脉或静脉血水平变化的可能的靶生物标志物。如实施例3中所示,采用该筛选的初始评价采用NE和CFL1进行。可在该筛选中评价的其它候选靶生物标志物包括NPY、DBN、Ca²⁺、肾素、多巴胺 β -羟化酶 (DBH)、血管紧张素 (AGT)、内皮素1、2和3、神经加压素 (NTS) 和淀粉样前体蛋白 β (A4) 前体蛋白 (APP)。

[0208] 在某些实施方式中,本文公开的方法采用上文所列的来自体内和体外研究的一种或多种靶生物标志物来评价肾神经调节的功效。本文在某些实施方式中提供包含对这些靶生物标志物中的一种或多种具有特异性的捕获剂或检测剂的组合物,以及试剂盒、组和包含此类捕获剂或检测剂的阵列。

[0209] 提供如下实施例来更好地说明本文公开的技术,其并不被理解为限制本技术的范围。所提及的具体材料/物质仅用于说明目的,且并不意在限制本技术。应理解,本文所述的方法可存在多种变化形式,其仍保留在本技术的范围内。发明人意在将这些变化形式包含在本技术范围内。

实施例

[0210] 实施例1:体内靶生物标志物筛选(猪肾组织):

[0211] 在来自家猪的肾动脉组织样品中进行基因表达研究,以鉴定在肾去神经/ 融除后不同时间点显示表达书评变化的候选靶生物标志物。

[0212] 将动物分为如下三组三种动物,其分别为:未处理(未经处理)、假处理(经 插管但未融除)和处理(采用螺旋融除导管装置进行65℃下90秒融除)。通过在处 理后10分钟(“第0天”)、7天或24小时在融除区域内组织取样来获得左和右肾动 脉和周围组织样品。取出来自融除位点中央的切片供于组织病理学分析,然后 融除位点通过去除任何未融除的组织来清理并汇集。组织在切割过程中采用 RNALater来维持。

[0213] 汇集的组织样品经称重并在冷冻条件下混合,然后在室温下添加至含有2x 不锈 钢珠(5mm直径)的圆底管。向各管添加900μL QIAzol裂解试剂,然后采用 组织裂解器II适 配器套件(TissueLyser II Adaptor Set)在30Hz (3x 2分钟)破坏来 释放RNA,以使组织浸 软。向各管添加300μL裂解缓冲剂,并重复所述破坏循 环(1x 2分钟,30Hz)。裂解物转移至 新Eppendorf管供于mRNA分离。

[0214] 向各裂解物样品添加120μl gDNA去除溶液,然后使所述管剧烈振荡15秒。添加 180μL氯仿,然后使所述管再次剧烈振荡15秒。室温下2-3分钟后,使含有 匀浆的管在4℃下 以12,000x g离心15分钟。使离心物升温至室温,然后将上方 水相转移至新Eppendorf管。 向彻底混合的各管添加等体积的70%乙醇,然后将 700μL各样品转移至2mL收集管中的 RNeasy小离心柱。样品在室温下以>8000 x g(>10,000rpm)离心15秒,然后弃去流通物。重 复乙醇混合和RNeasy离心步 骤直至所有样品用尽。向各离心柱添加700μL的缓冲剂RWT,然 后以>8,000x g (>10,000rpm)离心15秒来洗膜。弃去流通物,并向各离心柱添加500μL缓冲 剂 RPE,然后以>8,000x g (>10,000rpm)离心15秒。弃去流通物,并再次向各离 心柱添加 500μl缓冲剂RPE,然后以>8,000x g (>10,000rpm)离心两分钟来洗膜。将RNeasy离心柱置 于新的2mL收集管中,并全速离心1分钟。将离心柱置于新 的1.5mL收集管中,向离心柱的膜 直接添加50μL无RNA酶的水,然后通过 在 >8,000x g (>10,000rpm)离心1分钟来洗脱RNA。该 步骤另用50μL的无RNA酶 的水重复。为了确保显著性,验证A260读数大于0.15。260nm处1个 单位的吸 光值对应于中性pH下44μg的mRNA/mL ($A_{260}=1=44\mu\text{g/mL}$)。

[0215] 采用ABI高容量cDNA试剂盒将mRNA转换为cDNA供于定量实时PCR (qPCR)。在 Eppendorf epMotion液体处理器上新鲜制备的光学384孔板中进行 PCR。终反应体积是20μ L (4μL Taqman分析+6μL cDNA (3ng) 混合物+10μL 与UNG的通用主混物)。进行分析以包括+ RT(逆转录酶)样品和,合适时,包括 -RT对照。内源性对照(x2)以三份重复运行,而动物样 品仅运行一次以供筛选 目的。实时PCR方案包括初始步骤:50℃ (2分钟)以激活DNA聚合酶, 通过在95℃ 热启动10分钟来变性,以两部程序进行40次循环(在95℃变性15秒供于引物退 火 /在60℃延伸1分钟)。在60℃收集荧光数据。荧光用ABI PRISM 7900HT定量, 所得数据 采用SDS RQ管理器(1.2.1)软件(序列检测系统软件,应用生物系统公 司(Applied Biosystems))分析。检查各候选靶生物标志物,并调整阈值和基线以 生成(以 ΔR_n 对比循 环的方式)该种类的扩增曲线(按照应用生物系统公司在其“Relative Quantification Using Comparative Ct Getting Started Guide(《采用比较 Ct的相对定量起始指南》)” 中建议的那样)。选择校准器来计算RQ(相对定量)。所述校准器基于来自三只未处理动物

左动脉和右动脉的平均6x图,导致未处理 RQ为1的数字结果。为了计算未处理动物的标准偏差(SD)的RQ,采用任何其它 实验动物作为校准器(通常是经处理第0天的第一只动物)。计算各点和分别各候 选靶生物标志物的相同处理组中的动物(x3)的RQ平均值,并以柱状图形式作 图。

[0216] 计算10分钟、24小时和7天时的未处理、假处理和测试动物的肾NE和多巴 胺(DBN)水平。融除后的平均肾NE产量示于图38。计算候选基因以提供对应NE 产量的分级反应的能力。

[0217] 采用表1所示的70种候选靶生物标志物的组进行初始筛选。阴影的基因显 示融除10分钟、24小时和/或7天内表达增多或减少。优选的靶生物标志物是在 融除10分钟内显示表达有至少两倍变化的那些。自初始筛选来看,该组包括如 下基因:BDNF、CALCB、CD40L、CLU、EDN3、IL-10、KLKB1、SELE、DNAJA4、BTG2、DNAJB1、FOS、HSPB1、HSPD1和HSPH1。其中,最 优选 的生物标志物是分泌蛋白BDNF、CALCB、CD40L、CLU、EDN3、IL-10和KLKB1。可进行其它 筛选来评价稍后时间段(例如,融除后1个月、6个月或1年)的候选靶 生物标志物表达,以验证作为长期靶生物标志物的功效和表达变化的持久力。

[0218] 表1

[0219]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
BDNF (Frostick <i>Microsurgery</i> 18:397 (1998); Heberlein <i>Psychopharmacology</i> (Berl) 209:213 (2010))	分泌	融除后10分钟上调(图 39)	促进周围和中枢神经系统的所选神经元群的存活和分化, 参与轴突生长和路径发展以及树突生长和形态的调节
CALCB (Xie <i>Hypertension</i> 54:1298 (2009); Xie <i>J Pharmacol Exp Ther</i> 325:751 (2008))	分泌	融除后10分钟上调(图 40)	有力的血管舒张剂和降压剂、潜在的神经递质或神经调节物作用
CD40L (Jin <i>Anticancer Drugs</i> 23:445 (2012))	分泌	融除后10分钟上调(图 41) 融除后7天上调	促炎性和免疫调节功能
CLU (Lu <i>Curr Med Chem</i> 17:957 (2010))	分泌	融除后10分钟上调(图 42) 融除后7天上调	分泌的伴随物(热激蛋白)
EDN3 (Paulis <i>Nat Rev Cardiol</i> 7:431 (2010))	分泌	融除后10分钟上调(图 43)	有力的血管收缩肽
IL-10 (Zager <i>Am J Physiol Renal Physiol</i> 301:F1334 (2011); Lu <i>Curr Med Chem</i> 17:957 (2010))	分泌	融除后10分钟上调(图 44) 融除后24小时上调 融除后7天上调	在免疫调节和炎症中具有多效作用的抗炎性细胞因子, 抑制由活化的巨噬细胞和辅助T细胞产生的多种细胞因子(包括 IFN- γ 、IL-2、IL-3、TNF 和GM-CSF)的合成
KLKB1 (Paulis <i>Nat Rev Cardiol</i> 7:431 (2010))	分泌	融除后10分钟上调(图 45)	参与表面依赖性活化凝结、纤维蛋白溶解和炎症, 可通过将肾素原转化

[0220]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
			成肾素素在肾素-血管紧张素系统中起作用(血管收缩)
SELE (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	表面	融除后10分钟上调 融除后24小时上调 融除后7天上调	内皮细胞粘附分子/炎症
DNAJ44 (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	胞内/ 表面	融除后10分钟上调	蛋白质折叠和热反应
BTG2 (Struckmann Cancer Res 64:1632 (2004))	胞内	融除后10分钟上调	抗增殖, 神经元分化调节剂, 转录辅助因子
DNAJB1 (Lu Curr Med Chem 17:957 (2010))	胞内	融除后10分钟上调	与Hsp70相互作用, 刺激ATP酶活性
FOS (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	胞内	融除后10分钟上调	凋亡, 调节细胞增殖, 分化和转化
HSPB1 (Lu Curr Med Chem 17:957 (2010))	胞内	融除后10分钟上调	应激抵抗, 肌动蛋白组织
HSPD1 (Lu Curr Med Chem 17:957 (2010))	胞内	融除后10分钟上调 融除后24小时上调 融除后7天上调	伴侣蛋白, 涉及线粒体基质蛋白的折叠
HSPH1 (Lu Curr Med Chem 17:957 (2010))	胞内	融除后10分钟上调 融除后24小时上调	防止变性的蛋白质在严重胁迫下聚集
BMP7 (Zeisberg Nephrol Dial Transplant	分泌	融除后24小时上调(图46)	TGFβ超家族成员

[0221]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
21:568 (2006))			
LIF (Yoshino J Am Soc Nephrol 14:3090 (2003))	分泌	融除后24小时上调 融除后7天上调(图47)	涉及肾发生和ECM修复 的多效性细胞因子
ATP1A1 (Liu Mol Biol Rep 38:83 (2011))	胞内/表面	融除后24小时上调 融除后7天上调	建立并保持跨质膜的Na ⁺ 和K ⁺ 的电化学梯度
EDNRB (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	表面	融除后24小时上调 融除后7天上调	涉及血管收缩、血管舒张 和细胞增殖
ITGAM (Pereira Hemodial Int 14:295 (2010))	表面	融除后24小时上调 融除后7天上调	介导炎症和粘附
MC2R (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	表面	融除后24小时下调	涉及能量平衡, 炎症, 免 疫调节和温度控制
SLC2A5/GLUT5 (Soleimani Acta Physiol (Oxf) 201:55 (2011))	表面	融除后24小时上调 融除后7天上调	果糖转运物
TLR4 (Lu Curr Med Chem 17:957 (2010))	表面	融除后24小时上调 融除后7天上调	图案识别受体, 涉及炎症
TNFRSF1B (Mas Transplantation 85:626 (2008))	分泌/表面	融除后24小时上调 融除后7天上调	涉及抗凋亡蛋白的招募
HMOX1 (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	胞内	融除后24小时上调 融除后7天上调	催化血红素的降解, 在生 理学应激中活化
HSPA5 (SA 生物科学公司)	胞内	融除后24小时上调	利于ER中多聚体蛋白质 复合物的组装

[0222]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
(SABiosciences)RT ₂ 分析器PCR 阵列人类神经毒性平台)			
SOD2 (SA 生物科学公司 (SABiosciences)RT ₂ 分析器PCR 阵列人类神经毒性平台)	胞内	融除后24小时上调	损毁过氧化物阴离子基团
BNP (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	分泌	融除后7天上调	涉及钠尿、利尿、血管舒张、肾素抑制和醛固酮分泌
FASLG (SA 生物科学公司 (SABiosciences)RT ₂ 分析器PCR 阵列人类神经毒性平台)	分泌	融除后7天上调	触发凋亡
NTF3 (Frostick Microsurgery 18:397 (1998))	分泌	融除后7天下调(图48)	神经营养生长因子, 控制神经元存活和分化
ADRA2B (Kopp Hypertension 57:640 (2011))	表面	融除后7天下调	涉及调节神经递质从交感神经和CNS中肾上腺素神经元的释放
P2RY12 (Lechner Purinergic Signal 1:31 (2004))	表面	融除后7天上调	不同的生理学作用, 包括血小板聚集, 肌肉收缩和神经传递
TLR3 (Musial Pediatr Nephrol 26:1031 (2011))	表面	融除后7天上调	激活先天免疫和炎症
TLR7 (Musial Pediatr Nephrol 26:1031 (2011))	表面	融除后7天上调	激活先天免疫和炎症
细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂	胞内	融除后7天上调	细胞周期G1进展的有力

[0223]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
2B (CDKN2B, p15) (Romanenko Diagn Mol Pathol 11:163 (2002))			抑制剂, TGF β 诱导的细胞周期阻滞的有力效应物
细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1B (CDKN1B, p27, Kip1) (Andres Cardiovasc Res 63:11 (2004))	胞内	融除后7天下调	
热激70 kDa 蛋白14 (HSPA14)	胞内	融除后7天上调	
血管紧张素1 转化酶(ACE) (Frostick Microsurgery 18:397 (1998); Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	表面		
肌动蛋白 α 2 (ACTA2) (Yuan Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 284:R1219 (2003))	胞内		
激活素A 受体IIB 型(ACVR2B) (Pache Am J Physiol Renal Physiol 291:F654 (2006))	表面		
血管紧张素II 受体2 型 (AGTR2) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	表面		
刺豚鼠信号转导蛋白(ASIP) (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	分泌		
精氨酸抗利尿素(AVP) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	分泌		
精氨酸抗利尿素受体2 (AVPR2) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431	表面		

[0224]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
(2010))			
缓激肽受体B2 (BDKRB2) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	表面		
胱冬酶3 凋亡相关性丝氨酸蛋白酶 (CASP3) (Singdha Neurosci Bull 28:14 (2012))	胞内		
氯化物胞内通道1 (CLIC1) (SA 生物科学公司 (SABiosciences)RT ₂ 分析器PCR阵列 人类高血压平台)	表面/胞内		
细胞色素P450 家族2 亚家族E 多肽 1 (CYP2E1) (Wang Exp Toxicol Pathol 61:169 (2009))	表面		
DnaJ/Hsp40 同源物亚家族C 成员3 (DNAJC3) (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	胞内		
内皮素转化酶1 (ECE1) (Ihling Curr Vasc Pharmacol 2:249 (2004))	表面		
内皮素1 (EDN1) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	分泌		
内皮素受体A型 (EDNRA) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	表面		

[0225]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
鸟苷酸环化酶1可溶性 $\alpha 3$ (GUCY1A3) (SA生物科学公司 (SABiosciences)RT ₂ 分析器PCR阵 列人类高血压平台)	胞内		
热激70 kDa蛋白6 (HSP70B) (HSPA6) (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	胞内		
干扰素(α 、 β 和 ω)受体1 (IFNAR1) (Bhattacharya J Biol Chem 286:22069 (2011))	表面		
整联蛋白 αV 玻连蛋白受体 (ITGAV) (SA生物科学公司RT ₂ 分析器PCR 阵列人类内皮细胞生物平台)	表面		
钾大传导性钙-激活的通道亚家族 M α 成员1 (KCNMA1) (SA生物科学公司RT ₂ 分析器PCR 阵列人高血压平台)	表面		
Kruppel样因子4 (KLF4) (Liu Cell Stress Chaperones 11:379 (2006))	胞内		
激肽原1 (KNG1) (Paulis Nat Rev Cardiol 7:431 (2010))	分泌		
神经肽Y (NPY) (Krukoff Mol Brain Res 19:287 (1993))	分泌		

[0226]

基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
苯乙醇胺-N-甲基转移酶去甲肾上腺素(PNMT) (Wong Ann NY Acad Sci 1148:249 (2008))	胞内		
对氧磷酶2 (PON2) (Horke Circulation 115:2055 (2007))	表面		
前列腺素D2合酶21 kDa (脑) (PTGDS) (Vivekanandan-Giri Int J Proteomics 2011:214715 (2011))	胞内/分泌		
溶质运载蛋白家族22有机阳离子转运体1-OCT1 (SLC22A1) (Zhao Cancer Res 60:6276 (2000))	表面		
SRA茎-环相互作用RNA结合蛋白 (SLIRP) (Lu Curr Med Chem 17:957 (2010))	胞内		
过氧化歧化酶1,可溶性(SOD1) (Sonna J Appl Physiol 92:1725 (2002))	胞内		
血栓调节蛋白(THBD) (SA生物科学公司RT ₂ 分析器PCR阵列人类内皮细胞生物学平台)	表面		
瞬时受体潜在阳离子通道亚家族V成员1 (TRPV1) (Xie Hypertension 54:1298 (2009))	表面		
血管细胞粘附分子1 (VCAM1) (SA生物科学公司RT ₂ 分析器PCR	表面		

[0227]	基因 (参考文献)	位置	结果	基因产物功能/描述
	阵列人类内皮细胞生物学平台)			
	血管假性血友病因子 (vWF) (SA 生物科学公司RT ₂ 分析器PCR 阵列人类内皮细胞生物学平台)	分泌		

[0228] 将采用与肾骨盆内的神经(其中传入神经占高百分比)相关联的基因进行额外筛选。此类基因的示例列于表2

[0229] 表2

[0230]

基因 (参考文献)	位置
γ 2 肌动蛋白(ACTG2) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	胞内
小窝蛋白1 (Cav1) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	表面
钙调蛋白1 (CNN1) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	胞内
肌动蛋白结合蛋白280 (FLNA) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	胞内
谷胱甘肽过氧化物酶2 (GPX2) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	胞内
肌球蛋白轻多肽激酶 (MYLK) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	
c-AMP 蛋白激酶A (PRKACA) (Kopp Contrib Nephrol 172:107 (2011))	胞内
前列腺干细胞抗原(PSCA) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	表面
前列腺素E ₂ (PTGER2) (Kopp Contrib Nephrol 172:107 (2011))	表面
EP4 受体(PTGER4) (Kopp Contrib Nephrol 172:107 (2011))	表面
环氧酶2 (COX-2) (PTGS2) (Kopp Contrib Nephrol 172:107 (2011))	表面
速激肽1 前体(TAC1) (Kopp Contrib Nephrol 172:107 (2011))	分泌
速激肽受体1 (TACR1-NK1) (Xie Hypertension 54:1298 (2009))	表面
TP63 (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	胞内

[0231]	基因 (参考文献)	位置
	原肌球蛋白2 (TPM2) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	
	尿路斑块蛋白(Uroplakin)1B (Upk1B) (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	表面
	Upk3A (Higgins Mol Cell Biol 15:649 (2004))	表面

[0232] 筛选还可采用与肾传入神经不必然相关联的不同神经元基因进行。此类基因的示例列于表3

[0233] 表3

[0234]	基因 (参考文献)	位置
	膜联蛋白V (ANXA5) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	胞内
	降钙素基因相关多肽 α (CGRP/CALCA) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	分泌
	脂肪酸结合蛋白, 脑(FABP7) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	胞内
	神经丝, 重多肽(NEFH) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	胞内
	神经丝, 重多肽(NEFL) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	胞内
	磷脂酶C δ 4 (PLCD4) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	表面/胞内
	Na ⁺ 电压门控通道(SCN11A) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	表面
	电压门控Na通道的 β 1亚基(SCN1B) (Luo Nat Med 5:17 (1999))	表面

[0235] 将采用多种分泌的、表面和胞内基因进行额外筛选。可包括在所述筛选中的基因

的示例包括列于表4的那些。

[0236] 表4

基因 (参考文献)	位置
激活素 $\alpha 4$ (ACTN4) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	胞内
激活素A受体IIA型(ACVR2A) (Maeshima Endocr J 55:1 (2008))	表面
醛缩酶B果糖-磷酸氢酯(ALDOB) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	胞内
二聚糖(BGN) (Wu J Clin Invest 117:2847 (2007))	分泌
补体5 (C5) (Kerr Immunobiol 217:195 (2012))	分泌
MCP-1 (CCL2) (Darisipudi Am J Pathol 179:116 (2011))	分泌
趋化因子(C-C基序)配体5 (CCL5) (Lo Transplantation 91:70 (2011))	分泌
趋化因子(C-C基序)受体1 (CCR1) (Dikow Transplantation 90:771 (2010))	表面
睫状神经营养因子(CNTF) (Ransom Kidney Int 67:1275 (2005))	胞内
胶原1型 $\alpha 1$ (Col1A1) (Reich J Mol Diagn 13:143 (2011))	分泌
胶原1型 $\alpha 2$ (Col1A2) (Fragiadaki Matrix Biol 30:396 (2011))	分泌
胶质5型 $\alpha 2$ (Col5A2) (Liu Hypertension 55:974 (2010))	分泌
C反应蛋白(CRP) (Trimarchi Int J Nephrol Renovasc Dis 5:1 (2012))	分泌
结缔组织生长因子(CTGF/CNN2) (Lan Clin Exp Pharmacol Physiol (电子公开2011年12月28	分泌

[0237]

[0238]

基因 (参考文献)	位置
日))	
组织蛋白酶B (CTSB) (Todorov Kidney Blood Press Res 24:75 (2001))	胞内
库比林素(Cubilin)(CUBN) (Amsellem J Am Soc Nephrol 21:1859 (2010))	表面
CXCL5 (Maity Cytokine 54:61 (2011))	分泌
组织因子(LOC396677) (F3) (Kourtzelis Blood 116:631 (2010))	表面
原纤蛋白1 (FBN1) (Gaikwad Biochem J 432:333 (2010))	分泌
纤胶凝蛋白(含胶原/血纤蛋白原结构域) 3 (FCN3) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	分泌
成纤维细胞生长因子受体2 (FGFR2) (Ford Kidney Int 51:1729 (1997))	分泌/ 表面
纤调蛋白(FMOD) (Lee J Biol Chem 286:6414 (2011))	分泌
纤连蛋白(FN1) (Waalkes BMC Cancer 10:503 (2010))	分泌
岩藻糖转移酶6 (FUT6) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	胞内
胶质细胞系源性神经营养因子(GDNF) (Saito Hum Pathol 42:848 (2011))	分泌
Cybb, NOX2 (Gp91-phox) (Kinoshita Transl Res 158:235 (2011))	表面
谷胱甘肽S-转移酶A2 (GSTA2) (Leonard FASEB J 20:2624 (2006))	胞内
GST Yb-1 蛋白(GSTM1-1)	胞内

[0239]

基因 (参考文献)	位置
(Abruzzo Free Radic Res 44:563 (2010))	
谷胱甘肽S-转移酶 μ 2 (GSTM2-LOC780435) (Yuan Am J Physiol Regul Integr Comp 284:R1219 (2003))	胞内
谷胱甘肽S-转移酶 α (GSTA1) (GST- α) (Obeidat Nephrol Dial Transplant 26:3038 (2011))	胞内
异柠檬酸脱氢酶3 NAD β (IDH3B) (Dange J Biol Chem 285:20520 (2010))	胞内
白介素1b (IL1b) (Grishman Pediatr Res (2012年2月15日电子公开))	分泌
白介素6 (IL-6) (Zhang Hypertension 59:136 (2012))	分泌
CXCL8 (IL8) (Maity Cytokine 54:61 (2011))	分泌
诱导型一氧化氮合酶(iNOS (NOS2)) (Ma Am J Physiol Renal Physiol 300:F1410 (2011))	胞内
己酮糖激酶(果糖激酶) (KHK) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	胞内
粘连蛋白 β 1 (LAMB1) (Sataranatarajan Am J Pathol 171:1733 (2007))	分泌
脂质运载蛋白2 (NGAL) (LCN) (Zerega Eur J Cell Biol 79:165 (2000))	分泌
麦芽糖酶-葡萄糖淀粉酶(MGAM) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	表面
基质金属蛋白酶2 (MMP2) (Mazanowska Transplant Proc 43:3000 (2011))	分泌
基质金属蛋白酶9 (MMP9) (Begatta J Am Soc Nephrol 20:787 (2009))	分泌
金属硫蛋白(MT1A)	胞内

[0240]

基因 (参考文献)	位置
(Klosterhalfen Biochem Pharmacol 52:1201 (1996))	
神经元一氧化氮合酶1 (nNOS (NOS1)) (Zheng Am J Physiol Heart Circ Physiol 301:H2402 (2011))	表面
前列腺素E合酶2 (PTGES2) (Kopp Hypertension 57:640 (2011))	表面
前列腺素内过氧化物合酶1 (COX-1) (PTGS1) (Liu Am J Physiol Renal Physiol (2012年2月1日电子公开))	胞内
复制蛋白A1 (RPA-1) (Liu Mol Cell Biol 31:4298 (2011))	胞内
复制蛋白A2 (RPA-2) (Nakaya J Biochem 148:539 (2010))	胞内
神经胺-1-磷酸酯受体1 (S1PR1/EDG1) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	表面
丝氨酸蛋白酶抑制剂肽酶抑制剂进化枝F (SerpinaF1) (Sigdel Proteomics Clin Appl 4:32 (2010))	分泌
分泌型酸性半胱氨酸富集糖蛋白(粘骨素) (SPARC) (Lloyd-Burton J Comp Neurol (2011年12月15日电子公开))	分泌
转化生长因子 β 1 (TGFB1) (Lantero Mol Neurobiol 45:76 (2012))	分泌
转化生长因子 β 2 (TGFB2) (Lantero Mol Neurobiol 45:76 (2012))	分泌
酪氨酸羟化酶(TH) (Rothmond Anat Embryol (Berl) 209:41 (2004))	胞内
血小板反应蛋白1 (THBS1) (Sun Kidney Blood Press Res 35:35 (2012))	胞内
紧密连接蛋白(TJPI (ZO-1))	表面

[0241]

基因 (参考文献)	位置
(Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	
硫氧还蛋白(TXN) (Kasuno Rinsho Byori 59:189 (2011))	胞内/分泌
血管内皮生长因子A (VEGFA) (Chade F1000 Med Rep (2012年1月3日电子公开))	分泌
SMAD家族成员6 (SMAD6 (MADH6)) (Higgins Mol Biol Cell 15:649 (2004))	胞内
丙甘肽前多肽原(GAL) (Longley Neuroscience 55:253 (1993))	分泌
肾病蛋白(NPHS1) (Ruotsalainen Proc Natl Acad Sci USA 96:7962 (1999))	表面

[0242] 可进行额外筛选来评价不同非蛋白质候选生物标志物(如NE、DBN或肾组 织中的其它儿茶酚胺)的变化。

[0243] 实施例2:体外靶生物标志物筛选(人):

[0244] 其它候选靶生物标志物通过体外筛选人血管和神经元细胞来评价。基于对 实验条件反应的表达和/或分泌水平的变化鉴定靶生物标志物(所述实验条件模 仿对神经元和血管细胞的基于热的应激),由此模拟体内干预。具体而言,使细 胞接触炎性刺激和/或热以刺激动脉RF融除和体内SNS去神经。

[0245] 第一组基因谱分析和分泌组实验根据图49所示方案进行。在该第一组实验 中,使人冠状动脉内皮细胞(HCAEC)、人管状动脉平滑肌细胞(HCASM C)和 Lund人中脑细胞(LUHME S)接触炎性条件和/或热,然后进行分泌组和基因谱研 究。炎性条件通过用不同炎性细胞因子(例如,约5ng/ml的TNF α 或IL-1 β)处理培 养的细胞来获得,以模拟神经调节干 预下的细胞环境。接触热的细胞经历60 $^{\circ}$ C 的升温90秒,然后允许恢复至37 $^{\circ}$ C不同的时间段 (例如,30-120秒)。细胞培养 物样品在炎症/热接触之前和接触后1、5和10分钟获得,供于 蛋白质组分析。

[0246] 裂解细胞,然后进行基因谱分析。这导致鉴定出对炎症和热显示急性反应 的19种蛋白质。这些蛋白质列于表5。LTA、POU1F1、CPS1、NODAL、CCL13 和IL-10的结果分别列于图 50-55。

[0247] 表5

[0248]

基因	基因产物功能/描述
<i>CASP10</i>	半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶, 涉及凋亡、坏死和炎症的信号转导通路
<i>CCL13 (MCP4)</i>	趋化因子, 吸引单核细胞、淋巴细胞、嗜碱细胞和嗜酸性粒细胞, 但不吸引中性粒细胞
<i>CCND1</i>	细胞周期蛋白D1-CDK4 (DC)复合物的调节组分, 其磷酸化并抑制成视网膜细胞瘤(RB)蛋白家族的成员并调节G(1)/S转变过程中的细胞周期
<i>CD70</i>	结合CD27的细胞因子, 在T细胞活化中起作用, 诱导共刺激T细胞的增殖并增强溶细胞T细胞的生成
<i>CPS1</i>	线粒体酶, 其催化从氨和碳酸氢盐合成氨甲酰磷酸, 涉及排尿素动物的尿素循环, 在移动额外尿素中起重要作用
<i>CRYAB</i>	小热激蛋白(sHSP)家族成员, 作为分子伴侣通过将蛋白质控制在大大可溶性聚集体来起作用, 在许多神经疾病中表达升高
<i>DNAJB1</i>	与Hsp70相互作用, 刺激ATP酶活性
<i>DNAJB11</i>	
<i>HSPA1A</i>	
<i>HSPA1B</i>	
<i>HSPB6</i>	在多种组织中表达, 在不同类型的肌肉(包括血管、气道、结肠、膀胱、子宫平滑肌、心肌和骨骼肌)中最高量地组成性表达, 具有特定血管舒张功能、血小板功能和平滑肌和心肌中的胰岛素抵抗
<i>IL-10</i>	在免疫调节和炎症中具有多效作用的抗炎性细胞因子, 抑制由活化的巨噬细胞和辅助T细胞产生的多种细胞因子(包括IFN- γ 、IL-2、IL-3、TNF和GM-CSF)的合成
<i>KIT</i>	干细胞因子(肥大细胞生长因子)受体, 具有酪氨酸蛋白激酶活性, 配体结合导致自体磷酸化并与底物例如磷脂酰肌醇3-激酶(Pi3K)相关联
<i>LTA</i>	TNF家族成员, 由淋巴细胞生成, 高度可诱导, 与淋巴毒素 β 形成异聚三体

[0249]

基因	基因产物功能/描述
MYLK3	肌球蛋白轻链激酶(MLCK)是分成两种亚型的丝氨酸/苏氨酸激酶, MLCK1亚型在平滑肌中发现, 并使肌球蛋白II调节轻链的Ser19磷酸化
NODAL	TGF- β 超家族成员, 可能为中胚层形成和早期胚胎发育中轴突结构的后续组织中所必需
NPY1R	NPY受体是Gi/o-蛋白-偶联的受体, 其被分为四种亚型(Y1, Y2, Y4, Y5), 介导不同范围的生物学作用, 包括食物摄入和抗焦虑刺激
POU1F1	TNF配体家族成员, 转录因子POU家族的部分, 其调节哺乳动物发育
TCP1	分子伴侣, 协助ATP水解后的蛋白质折叠, 可在靶生物标志物组(涉及纤毛形成的复合物)形成中起作用, 在肌动蛋白和微管蛋白折叠中起作用

[0250] 收集的细胞培养物样品包含来自经处理细胞的培养基(即, 条件培养基), 其中所述细胞能够响应炎症和热而活跃地分泌蛋白质、肽和非蛋白质分子。对这些细胞培养物样品进行分泌组学分析以鉴定释放进入培养物的响应炎症和热的蛋白质。分泌组学分析采用iTRAQ方法进行(Wiśniewski Arch Pathol Lab Med 132:1566 (2008))。样品经稀释, 用胰蛋白酶消化, 并采用8-丛试剂iTRAQ 标记。将所得复合物蛋白消化物汇集到一起, 供于MudPIT分析。各部分通过 LC-MS/MS分析, 用于获得包括iTRAQ定量数据的质谱数据。列于表6的13种蛋白质显示接触炎症标志物和热之后的分泌增多。cTAGE-2的结果列于图56。

[0251] 表6

[0252]

蛋白质	基因	功能/描述
肌动蛋白, 胞质	ACTA2	作为收缩功能部分的细胞骨架的主要组分
S100钙结合蛋白A6	CACY/ 2A9	可作为钙感受器并作用于细胞该信号转导, 可通过与其它蛋白质相互作用来发挥功能, 并在重新组织肌动蛋白细胞骨架和细胞运动中起间接作用
丝切蛋白-1	CFL1	肌动蛋白去聚合化因子
蛋白cTAGE-2	CTAG1A1/ CTAG21	在多种癌症中过表达的抗原, 但也在正常睾丸中表达, 可能在存活/应激反应中起作用

[0253]

蛋白质	基因	功能/描述
L-乳酸脱氢酶A	LDHA	在需氧糖酵解的最末步骤中催化L-乳酸盐和NAD转 化成丙酮酸盐和NADH
跨膜蛋白141	MGC141/ TMEM141	多道膜蛋白
N- α -乙酰基转移酶20	NAA20/ NAT5	NatB复合物的催化亚基, 其催化以Met-Asp-Glu开始 的肽的N末端甲硫氨酸残基乙酰化, 可在正常细胞周 期进展中起作用
核苷酸二磷酸激酶B	NM23B	在核苷酸三磷酸酯而非ATP合成中起主要作用, 作为 MYC基因的转录激活物, 与DNA非特异性结合, 显示 组氨酸蛋白激酶活性
植烷酰-CoA 脱氧酶, 过氧化物酶	PAHX/ PHYH1	在脂质代谢中起作用
前折叠素亚基1	PFDN1	
丝氨酸/苏氨酸-蛋白 激酶PLK2	PLK-2	通过调节Ras和Rap蛋白信号转导在突触成型性和记 忆中起关键作用, 由p53/TP53诱导表明其参与应激后 的有丝分裂检查点, 由Thr-239的磷酸化激活
微管蛋白 α -1B链	TUBA1B	微管的部分, 在保持细胞形态中起作用
波形蛋白	VIM	在不同非上皮细胞(尤其是间充质细胞)中发现的III 类中间丝状体, 附于细胞核、内质网和线粒体, 后期 或末期与LARPS涉及CO1A1和CO1A2的I型胶原 mRNA的稳定化

[0254] 还采用市售可得的ELISA试验对细胞培养物样品进行蛋白质组学分析, 分析表5和6中鉴定的基因编码的蛋白质。

[0255] 第二组基因谱分析和分泌组实验根据图57所示方案进行。在第二组实验中, 神经元LUHMES细胞用热和炎性条件或重组应激因子例如BDNF或FGF5处理, 然后裂解并进行基因谱分析。从用热和炎性条件处理的LUHMES细胞收集条件培养基, 而内皮HCAEC用该条件培养基或重组神经元应激因子如BDNF或FGF5处理10分钟。然后, 内皮细胞经裂解并进行基因谱分析。处理的LUHMES和HCAEC细胞的基因谱分析导致鉴定出表7所列的20种靶生物标志物。该列表中的特定蛋白质的结果列于图58-68。

[0256] 表7

[0257]

蛋白质	基因	功能/描述
突触核蛋白, α (图58)	SNCA	可涉及多巴胺释放和转移的调节, 诱导微管相关蛋白 τ 的纤维化, 降低神经元对不同凋亡刺激的响应性
BDNF (图59)	BDNF	促进周围和中枢神经系统的所选神经元群的存活和分化, 参与轴突生长和路径发展以及树突生长和形态的调节
睫状神经营养因子	CNTF	不同神经元细胞类型的生存因子, 似乎防止运动轴突的退化
成纤维细胞生长因子 2 (基础) (图60)	FGF2	在细胞生存、细胞分裂、血管生成、细胞分化和细胞迁移的调节中起重要作用, 作为体外有力有丝分裂原
胶质细胞源性神经营 养因子1	GDNF	增强多巴胺能神经元的存活和形态分化, 并增强其高亲和性多巴胺摄取的神经营养因子
β -神经生长因子2	NGF	对交感和感觉神经系统的发育和维持具有重要性, 涉及神经元的分化和存活, 以及对涉及神经递质合成的酶的基因表达的控制
神经营养蛋白-3	NTF3	神经营养生长因子, 控制神经元存活和分化, 似乎促进内脏和本体感受感觉神经元的存活
PF4	分泌	在血小板聚集中释放, 通过相较载体蛋白分子的软骨素-4-硫酸酯链而更强地结合肝素来中和肝素的抗凝血剂作用, 对中性白细胞和单核细胞具有趋化性, 抑制内皮细胞增殖, 较短形式是比较长形式更有力的抑制剂
EDN2	分泌	高度有力的血管收缩肽, 定位至非血管结构包括上皮细胞、胶质和神经元, 主要生理作用是维持血管紧张度, 具有共有丝分裂活性和对其它生长因子的加强效果
ACE2	分泌	羧肽酶, 将血管紧张素II转化成血管紧张素1-7, 血管紧张剂
干扰素 γ		II类干扰素家族成员, 可溶性细胞因子, 具有抗病毒、

[0258]

蛋白质	基因	功能/描述
(IFN- γ)		免疫调节和抗肿瘤性质, 巨噬细胞的有力激活剂
青蒿琥酯 (ARTN) (图61)	分泌	GFR- α -3-RET 受体复合物的配体, 还可激活 GFR- α -1-RET 受体复合物, 支持感觉和交感周围神经元在培养中的存活, 支持中脑腹侧的多巴胺能神经元的存活
LIF	分泌	涉及肾发生和ECM修复的多效性细胞因子
小脑肽1前体(CBLN1) (图62)	分泌	神经调节剂, 直接刺激通过腺苷酸环化酶/PKA-依赖性信号转导通路的NE释放, 间接增强通过涉及髓儿茶酚胺释放的旁分泌机制的体内肾上腺皮质分泌
神经调节蛋白1 (NRG1) (图63)	分泌	最初被鉴定为44-kD糖蛋白, 其与NEU/ERBB2受体酪氨酸激酶相互作用以增加对酪氨酸残基的磷酸化, 作为介导细胞-细胞相互作用的信号转导蛋白, 在多器官系统的生长和发育中起关键作用
神经调节蛋白2 (NRG2) (图64)	分泌	神经调节蛋白家族成员
神经调节蛋白4 (NRG4) (图65)	分泌	神经调节蛋白家族成员
帕瑟素(Persephin) (PSPN) (图66)	分泌	显示对中脑多巴胺能和运动神经元的神经营养活性
NTF4 (图67)	分泌	周围感觉交感神经元的靶标源性的生存因子
转化生长因子 α (TGFA) (图68)	分泌	能够结合EGF受体/EGFR的促有丝分裂多肽, 并与 TGF β 协同作用以促进锚着依赖性细胞增殖

[0259] 实施例3: 体内靶生物标志物筛选 (猪肾动脉、肾静脉和全身血液):

[0260] 采用来自肾动脉的猪血进行蛋白质组学检测研究, 以筛选在肾去神经/融除 后不同时间点显示分泌水平变化的蛋白质和非蛋白质候选靶生物标志物。

[0261] 将动物分为如下三组三种动物,其分别为:未处理(未经处理)、假处理(经 插管但未融除)和处理(采用螺旋融除导管装置进行65℃下90秒融除)。血液采用 多腔OTW导管收集,该导管设计以收集位于左肾动脉或右肾动脉中的血样(参 见美国临时申请号61/608,626(C00002431.USP2))。去神经采用Symplicity™导管 或如美国专利申请号13/281,361中所述的替代导管进行。

[0262] 为了肾动脉血液收集,通过右或左股动脉获得经皮血管入口,并设置引导 鞘。利用荧光镜引导,将合适尺寸的血管造影导管通过引导鞘插入并伸进各肾 动脉。进行一次或多次血管造影用于治疗血管的测量。

[0263] 在用RF导管处理后并在融除后约2、5和10分钟采用特殊收集导管立即收集 肾动脉血样,所述特殊收集导管允许浓缩分泌的因子并收集回流(图69)。此外,在融除前和融除后约30±5和60±5分钟收集全身动脉血样品。处理手段汇总于表 8。表8

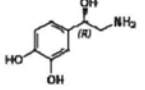
存活组	手段	导管类型	所需最少血管	动物最小数量
0天 (急性)	1	辛 普 力 (Symplicity)处理 (4-6次融除)	6	3
	2	假处理 (0次融除)	6	3
14天	3	辛 普 力 (Symplicity)处理 (4-6次融除)	6	3
	4	假处理 (0次融除)	6	3
	5 (未处理)	N/A	6	3
总计			30	15

[0265] 采用NE和CFL1进行初始评价,通过ELISA评估蛋白质水平。NE的结果示 于图70-76。CFL1的结果示于图77。

[0266] 该筛选方法可用于评价表1-7中所示的一种或多种靶生物标志物。可被评价 的其它候选生物标志物包括从应激的/去神经的神经末端在肾中释放的因子,例 如储存在神经末端处的神经递质(例如, NPY)、储存在神经末端中的酶(例如, DBH)、去神经后释放的离子(例如, Ca²⁺),和从肾动脉内皮细胞和肾释放的可 响应对肾交感系统应激或调节而起生理作用的因子(例如,内皮素1、2和3)。这 些其它可能的候选靶生物标志物的示例列于表9。可 采用其它猪生物样品(例如 尿)来进行额外筛选。

[0267] 表9

[0268]

因去神经而在肾中释放的因子	功能
去甲肾上腺素/降肾上腺素(NE)	具有多种作用的儿茶酚胺，所述作用包括作为激素和神经递质。NE通过酶苯乙醇胺N-甲基转移酶(PNMT)转化成肾上腺素，以S-腺苷-L-甲硫氨酸(SAMe)作为辅助因子。身体生成去甲肾上腺素或受去甲肾上腺素影响的区域被称为具有去甲肾上腺素激活性/产去甲肾上腺素性。去甲肾上腺素的最重要功能之一是起作为释放自交感神经元的神经递质而起作用。 
神经肽Y (NPY)	36个氨基酸的肽神经递质发现自脑和自主神经系统中，增强去甲肾上腺素激活/产去甲肾上腺素神经元的血管收缩作用。
多巴胺(DBN)	通过多巴胺β-羟化酶(DBH)转化成NE，以O ² 和L-抗坏血酸作为辅助因子。
Ca ²⁺	介导神经信号转导和再生，并能够在去神经后被释放
肾素	高度特异性内肽酶，作用以从血浆中的血管紧张素原产生血管紧张素I，起始级联反应以造成血压升高和经肾的钠潴留增加。
多巴胺β-羟化酶(DBH)	术语铜II型抗坏血酸盐依赖性单加氧酶家族的氧化还原酶，存在于神经节后交感神经元的突触泡中，将多巴胺转化成去甲肾上腺素。蛋白质以可溶形式和膜结合形式存在。
血管紧张素(AGT)	作为有力的血管收缩基直接作用于血管平滑肌，通过作用于交感神经系统而影响心肌收缩性，通过刺激肾上腺皮质的球状带细胞以合成并分泌醛固酮的能力来改变肾钠和水吸收。
内皮素1、内皮素2、内皮素3	内皮源性的血管活性肽，涉及多种生物学功能。活性形式是从前体蛋白质加工而来的21个氨基酸的肽。活化肽是EDNRB的配体，而该相互作用是神经嵴源性的细胞系(例如黑素细胞和肠神经元)发育所必需的。内皮素受体在所有组织中广泛表达，与起作为血管活性肽的生理学作用相一致。还定位于非血管结构，包括上皮细胞、胶质和神经元。内皮素受体的主要生理学作用

[0269]

	是维持血管紧张度。
神经降压素(NTS)	170 AA的蛋白质，可在脂肪代谢调节中起内分泌或旁分泌作用，造成平滑肌收缩。
淀粉质β(A4)前体蛋白(APP)	770 AA的蛋白质，N-APP结合TNFRSF21，触发神经元细胞体(通过半胱天冬酶-3)和轴突(通过半胱天冬酶-6)的半胱天冬酶激活和退化。

[0270] IV. 相关解剖和生理学

[0271] 下文讨论提供关于有关患者解剖学和生理学的进一步细节。该部分意图在 前文关于有关解剖学和生理学的讨论基础上作补充和延展,并提供关于本公开 技术的其它内容和与肾神经调节相关联的治疗益处。例如,如前所述,肾血管 的若干性质可教导对治疗装置的设计,以及用于实现肾神经调节的相关方法,并加强用于此类装置的特定设计需求。特定设计需求可包括进入肾动脉、输尿管或肾骨盆解剖结构,利于治疗装置的治疗元件与腔表面或壁之间的稳定接触,和/或采用所述治疗元件有效调节肾神经。

[0272] A. 交感神经系统

[0273] SNS是自律神经系统与肠神经系统和副交感神经系统的分支。在基线水平(称为交感紧张)总有活性,并且在压力期间变得更有活性。如同神经系统的其他部分,交感神经系统通过一系列互相连接的神经元操作。交感神经元通常认为是周围神经系统(PNS)的一部分,尽管很多位于中枢神经系统(CNS)内。脊髓的交感神经元(CNS一部分)与周围神经元通过一系列交感神经节联系。在神经节内,脊髓交感神经元通过突触连接周围交感神经元。脊髓交感神经元因此称为突触前(或神经节前)神经元,而周围交感神经元称为突触后(或神经节后)神经元。

[0274] 在交感神经节内的突触中,神经节前交感神经元释放乙酰胆碱,这是一种结合并激活神经节后神经元的烟碱乙酰胆碱受体的化学信使。响应此刺激,神经节后神经元主要释放去甲肾上腺素(NE)。延长激活能引起肾上腺髓质释放肾上腺素。

[0275] 一旦释放,去甲肾上腺素和肾上腺素结合周围组织的肾上腺素受体。肾上腺素受体的结合造成神经元和激素反应。生理表现包括瞳孔扩张,心律增加,偶然呕吐和血压增加。也可见由于汗腺的胆碱能受体结合引起的出汗增加。

[0276] 交感神经系统负责在活生物中上调和下调很多内稳态机制。SNS纤维在几乎每个器官系统中延伸通过组织,提供至少对一些性质的调节功能,所述性质多至瞳孔直径、肠道运动和泌尿道输出。所述反应也称为身体的交感-肾上腺反应,因为在肾上腺髓质(以及其他所有交感神经纤维)终结的神经节前交感神经纤维分泌乙酰胆碱,激活肾上腺素(肾上腺激素)和更少程度的去甲肾上腺素(NE)分泌。因此,所述主要作用在心血管系统的反应通过从交感神经系统传递的脉冲直接调节且通过肾上腺髓质分泌的邻苯二酚胺间接调节。

[0277] 科学通常把SNS看作自动调节系统,即没有意识思维干预的操作。一些进化理论家提出交感神经系统在早期生物体中作用以维持存活,因为交感神经系统负责引发身体运动。所述引发的一个示例是在醒前的时间,其中交感神经传出自发增加以为行动准备。

[0278] 1. 交感神经链

[0279] 如图78所示,SNS提供使脑与身体交流的神经网络。交感神经在脊柱内起源,向中间外侧细胞柱(或侧角)内的脊髓中部延伸,开始于脊髓的第一胸节并且认为延伸到第二或第三腰节。因为所述细胞在脊髓的胸和腰区开始,称SNS具有胸腰部流出物。所述神经的轴突使脊髓通过前支根/根。其通过脊(感觉)神经节附近,在此进入脊神经的前分支。然而,不同于体神经支配,它们通过白支接头快速分开,连接到脊椎旁(在脊柱附近)或脊椎前(在主动脉分叉附近)神经节,沿着脊柱延伸。

[0280] 为了到达靶标器官和腺体,轴突必须在体内延伸长距离,并且为此,很多轴突通

过突触传递将其信号传送到第二细胞。轴突的末端跨空间连接突触到第二细胞的树突。第一细胞(突触前细胞)跨突触界面发送神经递质,在此激活第二细胞(突触后细胞)。然后信号运到最终目的地。

[0281] 在SNS和周围神经系统的其他成分中,所述突触在称为神经节的位点生成。发送纤维的细胞称为神经节前细胞,而纤维离开神经节的细胞称为神经节后细胞。如前所述,SNS的神经节前细胞在脊髓的第一胸(T1)段和第三腰(L3)段之间定位。神经节后细胞在神经节内有其细胞体,并且发送其轴突到靶标器官或腺体。

[0282] 神经节不仅包括交感干,还包括发送交感神经纤维到头和胸腔器官的颈神经节(上,中和下),以及腹腔和肠系膜神经节(发送交感纤维到肠道)。

[0283] 2. 肾的神经

[0284] 如图79所示,肾神经系统包括肾丛,其与肾动脉密切相连。肾丛是围绕肾动脉的自主神经丛,并且埋入肾动脉的外膜内。肾丛沿着肾动脉延伸直至到达肾实质。作用于肾丛的纤维从腹腔神经节、肠系膜上神经节、主动脉肾神经节和主动脉丛中产生。肾丛也称为肾神经,主要由交感成分组成。没有(或至少很少有)肾的副交感神经活性。

[0285] 神经节前神经细胞体定位在脊髓的中间外侧细胞柱中。神经节前轴突通过椎旁神经节(不形成突触)成为内脏小神经、内脏最小神经、第一腰内脏神经、第二腰内脏神经并且延伸到腹腔神经节、肠系膜上神经节和主动脉肾神经节。神经节后神经细胞体离开腹腔神经节、肠系膜上神经节和主动脉肾神经节,到肾丛并分布于肾血管。

[0286] 3. 肾交感神经活性

[0287] 信号通过双向流动经SNS传输。传出信号能同时引起身体不同部分改变。例如,交感神经系统可加快心速,扩展支气管通道,降低大肠动力(活动),收缩血管,增加食道蠕动,造成瞳孔扩张,立毛(鸡皮疙瘩)和排汗(出汗),和升高血压。传入信号从身体的多个器官和感觉受体运送信号到其他器官且特别是大脑。

[0288] 高血压、心力衰竭和慢性肾病是许多疾病状态中少数由SNS,特别是肾交感神经系统的慢性激活造成的疾病。SNS的慢性激活是推动所述疾病状态发展的不适应反应。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)的药学管理是降低SNS过度活性的长期但是某种程度上无效的方法。

[0289] 如上所述,肾交感神经系统已经鉴定为实验和人体中高血压,容量超负荷状态(例如心力衰竭)和进行性肾疾病的复杂病理生理的主要作用因子。使用放射性示踪剂稀释法来测量去甲肾上腺素从肾溢入血浆的研究显示增加了原发性高血压患者,特别是年轻高血压对象中肾NE溢出率,与心脏中NE溢出增加相呼应,这与早期高血压通常见到的血液动力概况一致,并且表征为增加的心律、心输出量和肾血管抗性。现在已知原发性高血压通常为神经源性,经常伴有显著的交感神经系统过度活性。

[0290] 心肾交感神经活性的激活甚至在心力衰竭中更加显著,如该患者组中从心和肾到血浆的超常NE溢出增加所显示。与所述概念相符,近期显示有充血性心力衰竭的患者中肾交感神经激活对全因死亡和心脏移植的强阴性预测值,这独立于整体交感活性、肾小球滤过率和左心室射血分数。所述发现支持以下想法:设计成降低肾交感刺激的治疗方案有提高心力衰竭患者中存活率的潜能。

[0291] 慢性和末期肾疾病的表征都是升高的交感神经活化。有末期肾疾病的患者中,NE

的血浆水平高于中值已经显示预测全因死亡和心血管疾病死亡。这对患 糖尿病或造影剂肾病的患者也如此。有强有力的证据显示,源自患病肾的感觉 传入信号是起始和维持该患者组内提高的中枢交感流出的主要原因,这促进了 慢性交感过度活性的熟知不良后果发生,例如高血压、左心室肥大、室性心律 失常、心脏性猝死、胰岛素抵抗、糖尿病和代谢综合症。

[0292] i. 肾交感神经传出活性

[0293] 到肾的交感神经在血管、肾小球旁器和肾小管中终止。肾交感神经的刺激 造成肾素释放增加,钠(Na^+)重吸收增加和肾血流降低。所述肾功能的神经调节 组分在表征为交感紧张升高的疾病状态中受到显著刺激并且明显引起高血压 患者的血压升高。肾交感传出刺激引起的肾血流和肾小球滤过率降低可能是心 肾综合征中肾功能丧失的基础,其肾功能障碍作为慢性心力衰竭的进行性并发 症,有通常随着患者临床状态和治疗波动的临床过程。阻止肾传出交感刺激的 药学方法包括中枢作用的交感神经阻滞药, β 阻滞剂(旨在降低肾素释放),血管 紧张素转换酶抑制剂和受体阻滞剂(旨在阻断肾素释放后的血管紧张素II作用 和醛固酮激活)和利尿剂(旨在抵消肾交感介导的钠水滞留)。然而,当前药学方 法有很大局限性,包括有限功效、依从性问题、副作用等。

[0294] ii. 肾感觉传入神经活性

[0295] 肾通过肾感觉传入神经与中枢神经系统的整体结构联系。“肾损伤”的几种 形式可诱导感觉传入信号的激活。例如,肾缺血,搏出量或肾血流下降,或丰 富的腺苷可以引起传入神经通信的激活。如图81A和81B所示,该传入通信可以 从肾到脑或者可以从一个肾到另一个肾(通过中枢神经系统)。这些传入信号是 中枢整合的,并且可导致交感溢出增加。所述交感神经激动针对肾,因此激活 RAAS和诱导增加的肾素分泌、钠滞留、液体容积保持和血管收缩。中枢交感 过度活性也能影响具有交感神经的其他器官和身体结构,例如心和外周血管, 造成所述交感激活的不良作用,其一些方面也引起血压升高。

[0296] 因此,生理学提示(i)传出交感神经对组织的调节能减少不合适的肾素释 放、钠潴留和肾血流减少,以及(ii)传入感觉神经对组织的调节能通过其对下丘 脑后部和对侧肾的直接影响来减少对高血压和与中枢交感紧张增加相关的其 它疾病状态的全身作用。除了传入肾神经调节的中枢低血压效果外,预测中枢 交感神经流入多个其他器官例如心和血管有所需降低。

[0297] B. 肾神经调节的附加临床益处

[0298] 如前所述,肾神经调节可能在治疗以增加的整体和特定肾交感活性为表征 的若干临床病症中价值,例如高血压、代谢综合症、胰岛素抵抗、糖尿病、左心室肥大、慢性末期肾病、心力衰竭中的不当液体潴留、心-肾综合症和猝死。既然传入肾信号的降低作用于交感神经作用/驱动的系统降低,肾神经调节也可 以用于治疗其他与系统交感神经高度活性相关的情况。因此,肾神经调节也对 具有交感神经的其它器官和体结构有利,包括图78所确定的。

[0299] C. 实现通向肾动脉的血管内接入

[0300] 依照本技术,紧密连接左和/或右肾动脉的左和/或右RP的神经调节可通过 血管内接入而实现。如图80A所示,由心脏收缩所致的血液流动通过主动脉从 心脏左心室输出。所述主动脉穿过胸下行,并分枝进入所述左肾动脉和右肾动 脉。在肾动脉下方,所述主动

脉在左髂动脉和右髂动脉分枝。左髂动脉和右髂动脉分别下行,穿过左腿和右腿,连接左股动脉和右股动脉。

[0301] 如图80B所示,所述血液在静脉聚集,通过股静脉进入髂静脉,再进入下腔静脉,回到心脏。下腔静脉分枝进入左肾静脉和右肾静脉。在肾静脉上方,下腔静脉上行以将血液送入心脏的右心房。来自右心房的血液经右心室泵入肺,并在其中充氧。含氧血从肺送入左心房。来自左心房的含氧血由左心室送回至主动脉。

[0302] 可在腹股沟韧带中点正下方的股三角底部对股动脉接口并插管。可通过该接口位点,经皮向股动脉内插入导管,穿过髂动脉和主动脉,并进入左肾动脉或右肾动脉。这包含血管内通路,所述通路对各肾动脉和/或其它肾血管提供侵害性最低的入口。

[0303] 腕部、上臂和肩部提供了将导管引入动脉系统的其它位置。例如,可在选择情况下,使用桡动脉、肱动脉或腋动脉的插管术。可采用标准血管造影技术,使经这些接口点引入的导管通过左侧的锁骨下动脉(或通过右侧的锁骨下动脉和头臂动脉),通过主动脉弓,下到下行主动脉并进入肾动脉。

[0304] D. 肾脉管系统的性质和特点

[0305] 由于根据本技术可通过血管内接入实现左和/或右RP的神经调节,肾脉管系统的性质和特点可对用于实现这种肾神经调节的设备、系统和方法的设计加以限制和/或提示。一些这类特性可在不同患者群和/或特定患者内随着时间而不同,对疾病状态做出的反应也可能不同,所述疾病状态诸如高血压、慢性肾病、血管病、末期肾病、胰岛素抵抗、糖尿病、代谢综合症等。本文所解释的这些性质和特点可能与方法的功效以及所述血管内装置的特定设计有关。感兴趣的性质可包括例如,材料/机械、空间、流体动力学/血液动力学、和/或热力学性质。

[0306] 如上所述,可通过最小侵入性血管内途径推进经皮进入左或右肾动脉的导管。然而,最小侵入性肾动脉接口可能会具有挑战性,例如,因为与常规使用导管进入的其它一些动脉相比,肾动脉通常是极其弯曲,可能具有相对较小直径,和/或可能具有相对较短长度。此外,肾动脉粥样硬化常见于许多患者,尤其是那些有心血管疾病的患者。肾动脉解剖结构在患者间也可能显著变化,这使得最小侵入性接入进一步复杂化。在例如相对弯曲、直径、长度和/或动脉粥样硬化斑块负荷以及肾动脉从主动脉分枝的离源角中都可看到显著的患者间变化。用于通过血管内接入来实现肾神经调节的设备、系统和方法在最小侵入性接入肾动脉时,应考虑肾动脉解剖结构的这些和其它方面及其在患者群之间的变化。

[0307] 除复杂的肾动脉接入之外,肾解剖结构的特点也使神经调节装置与肾动脉的腔表面或壁之间建立稳定接触复杂化。当神经调节装置包括能量递送元件(例如电极)时,该能量递送元件与血管壁的一致定位和施加的合适接触力对于可预测性而言是重要的。然而,肾动脉内的紧密空间和所述动脉的弯折通常阻碍了导向。此外,一致接触的建立可能因患者移动、呼吸和/或心动周期而变得复杂。这些因素,例如,可造成肾动脉相对于组织脉的显著移动,而心动周期可能会使肾动脉瞬时扩张(即,造成该动脉壁搏动)。

[0308] 在接入肾动脉并促使神经调节装置和动脉腔表面之间稳定接触后,可通过所述神经调节装置安全地调节所述动脉外膜内部或周边的神经。考虑到与这些处理相关的潜在临床并发症,在肾动脉内部实施有效的热处理并非微不足道。例如,肾动脉的内膜和中膜易受热损伤影响。如下文更详细所讨论,分离血管腔与动脉外膜的内膜-中膜厚度意味

着靶标肾神经可距离所述动脉的腔表面数毫米。可向靶肾神经递送充足能量以调节靶肾神经而不使血管壁过度降温或加热至 该壁冷冻、变干或可能受影响至不希望程度的状况。与过度受热相关联的潜在 临床并发症是流经该动脉的血液凝固形成血栓。因此,在处理过程中存在于肾 动脉中的复杂流体力学和热力学条件,尤其是在处理位点可能影响传热动力学 的那些,对于从肾动脉内施加能量而言是重要的。

[0309] 由于处理的位置也会影响临床功效,所以该神经调节装置可设置为允许可 调节地在肾动脉中定位和再定位所述能量递送元件。例如,考虑到肾神经可能 环绕肾动脉圆周分隔,在肾动脉内应用完全圆周处理或许具有吸引力。在一些 情况中,持续圆周处理可能导致的全圆周损伤可能与肾动脉狭窄有关。因此, 形成沿肾动脉纵向上的更多复杂损伤和/或将所述神经调节装置重新定位于多 个处理位置可能是需要的。然而,应注意,建立圆周消融的益处可胜过肾动脉 狭窄的风险,或者说在某些实施方式或在某些患者体内可以降低该可能,从而 可将建立圆周消融作为目标。此外,所述神经调节设备的可变定位和重新定位 在肾动脉特别弯曲或在肾动脉主血管分出近枝血管的情况中可证明是有用的, 所述情况使在某些位置的处理具有挑战性。

[0310] 通过肾动脉的血流可能暂时性短时堵塞,有极少并发症或无并发症。然而, 在一些情况中,可避免显著长度时间的阻塞以降低肾损伤(如局部缺血)的可能 性。完全避免堵塞能是有利的,或者,如果堵塞有利于某实施方式,限制该堵 塞的持续时间例如至2-5分钟。

[0311] 基于上述挑战:(1)肾动脉介入术,(2)处理元件针对血管壁的一致且稳 定的放置,(3)贯穿血管壁的处理的有效应用,(4)所述处理设备的定位和潜在 重新定位以允许有多个处理位置,以及(5)避免或限制血流堵塞的持续时间, 可能感兴趣的肾脉管系统的各种非依赖和依赖性质包括例如,(a)血管直径、血 管长度、内膜-中膜厚度、摩擦系数和弯曲度;(b)血管壁的膨胀性、刚性和模 量;(c)收缩期峰值和舒张末期血流流速、收缩舒张峰值血流流速均值和测量容 积血流速的平均值/最大值;(d)血液和/或血管壁的特定热容量、血液和/或血管 壁的导热性,和/或经过血管壁处理位点和/或辐射传热的血流的热导性;(e)由 呼吸、患者移动和/或血流脉动(pulsatility)引起的相对于主动脉的肾动脉移动; 和(f)肾动脉相对于主动脉的离源角。将更详细地讨论关于肾动脉的这些性质。然而,取 决于用来实现肾神经调节的设备、系统和方法,肾动脉的这些性质也 可指导和/或限制设计特性。

[0312] 如上所述,定位在肾动脉内的设备可符合所述动脉的几何形状。肾动脉血 管直径, D_{RA} ,通常是约2-10mm,患者群中大部分的 D_{RA} 是约4mm至约8mm, 平均为约6mm。肾动脉血 管长度, L_{RA} ,在其主动脉/肾动脉接合点的孔口和其 末梢分枝处之间,通常在约5~70mm范 围内,而患者群的大部分是在约20~50 mm范围内。由于靶肾丛包埋在肾动脉的动脉外膜 内,复合的内膜-中膜厚度(IMT)(即,从动脉腔表面向外到包含靶神经结构的动脉外膜的径 向距离)也是值 得注意的,其一般在约0.5~2.5mm范围内,均值为约1.5mm。尽管一定的处 理 深度对到达靶神经纤维可能是重要的,但是可防止处理过深(例如,距离肾动脉 内壁> 5mm),以避免非靶组织和解剖结构(例如肾静脉)。

[0313] 肾动脉的另一个可能感兴趣的性质是由呼吸和/或血流脉动引起的肾相对 主动脉移动的程度。位于肾动脉远端末端的患者肾脏可随着呼吸幅度而向头端 (cranially)移

动多达4英寸。这可造成连接主动脉和肾脏的肾动脉的显著运动，从而需要从神经调节设备获得刚性和韧性的独有平衡，以在呼吸周期中保持热 处理元件和血管壁之间的接触。此外，肾动脉和主动脉之间的离源角在不同患者间可能显著变化，在同一患者体内也可动态变化(例如由肾脏运动引起的)。所述离源角一般可在约30°~135°的范围内。

[0314] V其它的例子

[0315] 以下示例用于说明本技术的若干实施方式：

[0316] 1. 一种系统，所述系统包含：

[0317] 神经调节元件，所述神经调节元件设置为调节患者肾动脉处或附近的神经；

[0318] 长轴，所述长轴具有第一部分和第二部分，所述第一部分设置为在神经调节元件调节所述神经时定位于血管内，而所述第二部分接近所述第一部分，所述第二部分设置为在所述神经调节元件调节所述神经时位于体外；

[0319] 闭塞构件，所述闭塞构件环绕所述第一部分的区段延伸；

[0320] 取样口，所述取样口位于所述第一部分的区段的近端；

[0321] 取样腔，所述取样腔从所述取样口向所述第二部分延伸；

[0322] 所述闭塞构件内的膨胀开口；和

[0323] 膨胀腔，所述膨胀腔从所述膨胀开口向所述第二部分延伸。

[0324] 2. 如实施例1所述的系统，其还包含分析仪，该分析仪设置为就响应神经调节而变化的生物学参数分析来自所述患者的生物学样品。

[0325] 3. 如示例2所述的系统，其特征在于，

[0326] 所述分析仪可操作地连接至所述第二部分；和

[0327] 所述取样腔沿所述轴从所述取样口延伸至所述分析仪。

[0328] 4. 如示例2或示例3所述的系统，其还包含耦合至所述第二部分的手柄，其中所述分析仪由所述手柄携带。

[0329] 5. 如示例2~4中任一项所述的系统，其特征在于，所述分析仪包含设置以指示生物学参数的状态、基于该生物学参数的神经调节状态或所述二者的指示器。

[0330] 6. 如示例2~5中任一项所述的系统，该系统还包含：

[0331] 所述闭塞构件近端的灌注入口；

[0332] 所述闭塞构件远端的灌注出口；

[0333] 在所述灌注入口和所述灌注出口之间延伸的灌注腔；和

[0334] 可操作地连接至所述灌注腔的加压装置、泵，所述泵设置为当所述闭塞构件至少部分堵塞所述肾动脉时使血液移动通过所述灌注入口进入所述灌注腔并通过所述灌注出口流出所述灌注腔。

[0335] 7. 如示例1~6中任一项所述的系统，其还包含位于所述轴内的导线腔，其中所述取样腔和膨胀腔位于所述轴内，在所述导线腔对侧的至少近端处。

[0336] 8. 如示例1~7中任一项所述的系统，其特征在于，所述闭塞构件是顺应性气囊。

[0337] 9. 如示例1~8中任一项所述的系统，该系统还包含真空泵，该真空泵可操作地连接至所述取样腔。

[0338] 10. 如示例1~9中任一项所述的系统，其特征在于，所述神经调节元件包含彼此隔开的多个电极，所述电极设置为同时递送RF能量至神经。

- [0339] 11. 如示例10所述的系统,其特征在于,
- [0340] 所述神经调节元件具有递送状态和展开状态;且
- [0341] 所述神经调节元件的至少部分在展开状态下是螺旋形的。
- [0342] 12. 如示例1~9中任一项所述的系统,其特征在于,所述神经调节元件 包含单一电极。
- [0343] 13. 一种系统,所述系统包含:
- [0344] 神经调节元件,所述神经调节元件设置为调节患者肾动脉处或附近的神 经;
- [0345] 长轴,所述长轴具有第一部分和第二部分,所述第一部分设置为在神经调 节元件调节所述神经时定位于血管内,而所述第二部分接近所述第一部分,所 述第二部分设置为在所述神经调节元件调节所述神经时位于体外;
- [0346] 闭塞构件,所述闭塞构件环绕所述第一部分的区段延伸;
- [0347] 取样口,所述取样口位于所述第一部分的区段的近端;
- [0348] 取样腔,所述取样腔从所述取样口向所述第二部分延伸;
- [0349] 所述闭塞构件内的膨胀开口;
- [0350] 膨胀腔,所述膨胀腔从所述膨胀开口向所述第二部分延伸;
- [0351] 分析仪,该分析仪设置为就响应神经调节而变化的生物学参数分析来自所 述患者的生物学样品;
- [0352] 具有远端取样元件的取样延伸部分,其中所述取样延伸部分设置为在所述 闭塞构件至少部分堵塞所述肾动脉时从所述轴远离所述神经调节元件向远端 延伸进入所述患者的肾的叶间血管;和
- [0353] 所述取样口由所述远端取样元件携带。
- [0354] 14. 如示例13所述的系统,其还包含耦合至所述第二部分的手柄,其中 所述分析仪由所述手柄携带。
- [0355] 15. 如示例14所述的系统,其特征在于,所述分析仪包含设置以指示生 物学参数的状态、基于该生物学参数的神经调节状态或所述二者的指示器。
- [0356] 16. 一种系统,所述系统包含:
- [0357] 神经调节元件,所述神经调节元件设置为调节患者肾动脉处或附近的神 经;
- [0358] 第一长轴,所述第一长轴具有第一部分和第二部分,所述第一部分设置为 在神经调节元件调节所述神经时定位于血管内,而所述第二部分接近所述第一 部分,所述第二部分设置为在所述神经调节元件调节所述神经时位于体外;
- [0359] 闭塞构件,所述闭塞构件环绕所述第一部分的区段延伸;
- [0360] 位于所述区段远端的取样口;
- [0361] 取样腔,所述取样腔从所述取样口向所述第二部分延伸;
- [0362] 所述闭塞构件内的膨胀开口;
- [0363] 膨胀腔,所述膨胀腔从所述膨胀开口向所述第二部分延伸;
- [0364] 第二长轴,所述第二长轴具有耦合至所述神经调节元件的远端末端部分;
- [0365] 位于所述取样口远端的装置开口;
- [0366] 装置腔,所述装置腔从所述装置开口向所述第二部分延伸;和
- [0367] 第二轴,所述第二轴设置为通过所述装置腔滑动延伸,从而所述远端末端 部分延

伸通过所述装置开口。

[0368] 17. 如示例16所述的系统,其还包含分析仪,该分析仪设置为就响应神经调节而变化的生物学参数分析来自所述患者的生物学样品。

[0369] 18. 如示例17所述的系统,其特征在于,

[0370] 所述分析仪可操作地连接至所述第二部分;和

[0371] 所述取样腔沿所述轴从所述取样口延伸至所述分析仪。

[0372] 19. 如示例17或示例18所述的系统,其还包含耦合至所述第二部分的手柄,其中所述分析仪由所述手柄携带。

[0373] 20. 如示例17~19中任一项所述的系统,其特征在于,所述分析仪包含设置以指示生物学参数的状态、基于该生物学参数的神经调节状态或所述二者的指示器。

[0374] 21. 一种系统,所述系统包含:

[0375] 血管内导管,该血管内导管具有位于近端部分的手柄、位于远端部分的神经调节和取样组件,以及其间的长轴,所述神经调节和取样组件包括——

[0376] 设置以调节肾神经的神经调节元件,

[0377] 取样元件,该取样元件位于所述神经调节元件近端并设置为收集肾血液样品,所述取样元件具有——

[0378] 取样口;

[0379] 沿所述轴从所述取样口延伸至所述手柄的取样腔;

[0380] 位于所述取样元件近端的闭塞元件,所述闭塞元件具有——

[0381] 气囊;

[0382] 所述气囊内的膨胀开口;

[0383] 从所述膨胀开口向所述手柄延伸的膨胀腔;

[0384] 可操作地连接至所述手柄的控制台,所述控制台设置为向所述神经调节元件供给能量;和

[0385] 分析仪,所述分析仪设置为检测所述肾血液样品中的生物标志物的浓度,所述浓度对应于肾神经调节的程度。

[0386] 22. 一种方法,所述方法包括:

[0387] 将神经调节元件置于患者的肾血管内或肾血管附近的治疗位点处;

[0388] 激活所述神经调节元件以调节该患者的肾神经;

[0389] 在激活所述神经调节元件之后,使闭塞构件在所述肾血管内的闭塞位点展开;

[0390] 在所述闭塞构件展开后,从所述闭塞位点远端的肾血管的部分收集血液样品;和

[0391] 就响应神经调节而变化的生物学参数分析所述血液样品。

[0392] 23. 如示例22所述的方法,其特征在于:

[0393] 收集血液样品包括收集第二血液样品;

[0394] 所述方法还包括在激活所述神经调节元件之前从所述肾血管的部分收集第一血液样品;和

[0395] 分析所述血液样品包括分析所述第一血液样品和所述第二血液样品。

[0396] 24. 如示例22所述的方法,其特征在于,收集所述血液样品包括将所述血液样品从肾血管内的取样口沿取样腔输送至便携式容器,并且该方法还包括将所述容器移动至

设置为分析所述血液样品的血液分析单元。

[0397] 25. 如示例22所述的方法, 其特征在于:

[0398] 展开所述闭塞构件包括膨胀气囊以使所述肾血管的肾动脉完全闭塞; 和

[0399] 收集所述血液样品包括——

[0400] 在膨胀所述气囊之后收集第一一定量的血液,

[0401] 在收集所述第一一定量的血液之后部分缩小所述气囊,

[0402] 在部分缩小所述气囊之后重新膨胀所述气囊, 从而使该气囊完全堵塞肾动 脉,

[0403] 在重新膨胀所述气囊之后收集第二一定量的血液; 和

[0404] 将所述第一一定量的血液和第二一定量的血液合并以形成血液样品。

[0405] 26. 如示例22所述的方法, 其特征在于:

[0406] 分析所述血液样品包括检测生物学参数;

[0407] 所述神经调节元件的激活在第一时间进行; 并且

[0408] 所述方法还包括响应所述检测而在第二时间激活所述神经调节元件。

[0409] 27. 如示例26所述的方法, 其特征在于, 所述第二时间是在所述第一时 间之后的约15分钟以内。

[0410] 28. 一种系统, 所述系统包含:

[0411] 长轴, 所述长轴包含设置以腔内递送至人患者的动脉的远端部分;

[0412] 通过所述远端部分连接至所述轴的神经调节和取样组件, 所述组件包 含——

[0413] 能量递送元件, 所述能量递送元件设置为调节位于患者动脉的至少近端的 神经,

[0414] 取样口, 所述取样口设置为在血管内所述治疗位点处或附近获得患者生物 样品;

[0415] 分析仪, 该分析仪可操作地耦合至所述轴并设置为接收至少部分生物样品 并指示所述生物样品的状态和/或基于所述生物样品的神经调节的状态。

[0416] 29. 如示例28所述的系统, 其特征在于, 所述神经调节和取样组件还包 括闭塞构件, 该闭塞构件环绕所述取样口近端的轴的部分延伸。

[0417] 30. 如示例28或示例29所述的系统, 其还包含取样腔, 该取样腔从所述 取样口向所述长轴的近端部分延伸。

[0418] 31. 如示例30所述的系统, 其特征在于, 所述取样腔可操作地连接至负 压源。

[0419] 32. 如示例30或示例31所述的系统, 其特征在于, 所述取样腔包含单向 阀。

[0420] 33. 如示例28~32中任一项所述的系统, 其特征在于, 所述神经调节和 取样组件包括多个取样口, 所述多个取样口散布多个能量递送元件。

[0421] 34. 一种监测人对象中肾神经调节过程的功效的方法, 所述方法包括:

[0422] 测定一种或多种靶生物标志物的基线水平或活性;

[0423] 通过神经调节组件至少部分抑制所述对象肾神经内的交感神经活性;

[0424] 测定神经调节后所述靶生物标志物的水平或活性; 和

[0425] 将所述神经调节后水平或活性与基线水平或活性做比较, 其中当所述神经 调节后水平或活性与所述基线水平或活性之间具有显著差异时, 将所述神经调 节过程归为成功。

[0426] 35. 如示例34所述的方法, 其特征在于, 至少部分抑制所述对象的肾神 经内的交感神经活性包括通过所述神经调节组件向所述肾神经递送能量, 以调 节所述肾神经。

[0427] 36. 如示例35所述的方法, 其特征在于, 所述能量是无线电频率(RF)能量。

[0428] 37. 如示例35所述的方法, 其特征在于, 所述能量选自下组: 脉冲RF能量、微波能量、激光能量、光能、超声能量、高强度聚焦的超声能量、磁能、直接热能和冷冻治疗能量。

[0429] 38. 如示例34~37中任一项所述的方法, 其特征在于, 至少部分抑制所述对象的肾神经内的交感神经活性包括通过所述神经调节组件向所述肾神经递送化学品以调节所述肾神经。

[0430] 39. 如示例34~38中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述神经调节组件包含血管内定位的导管, 其携带定位于所述肾神经至少近端的能量递送元件。

[0431] 40. 如示例34~39中任一项所述的方法, 其特征在于, 至少部分抑制所述对象的肾神经内的交感神经活性包括通过所述神经调节组件从所述对象的肾血管内部热调节所述肾神经。

[0432] 41. 如示例34所述的方法, 其特征在于, 至少部分抑制所述对象肾神经内的交感神经活性包括以调节交感神经活性的方式向所述肾血管内的治疗位置处的组织递送化学剂。

[0433] 42. 如示例34~41中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述一种或多种靶生物标志物选自下组: ADRA2b、ATP1A1、BDNF、BMP7、BNP、BTG2、CALCB、CD40L、CDKN1B、CDKN2B/p15、CLU、DNAJA4、DNAJB1、EDN3、ETB、FASLG、FOS、HMOX-1、HSPA5、HSPA14、HSPB1、HSPD1、HSPH1、IL-10、ITGAM、KLKB1、LIF、MC2R、NTF3、P2RY12、SELE、SLC2A5/GLUT5、SOD2、TLR3、TLR4、TLR7和TNFRSF1B。

[0434] 43. 如示例34~41中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述一种或多种靶生物标志物选自下组: CASP10、CCL13、CCND1、CD70、CRYAB、CPS1、DNAJB1、DNAJB11、HSPA1A、HSPA1B、HSPB6、IL-10、KIT、LTA、MYLK3、NODAL、NPY1R、POU1F1和TCP1。

[0435] 44. 如示例34~41中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述一种或多种靶生物标志物选自下组: ACTA2、CACY/2A9、CFL1、CTAG1A1/CTAG21、LDHA、MGC141/TMEM141、NAA20/NAT5、NM23B、PAHX/PHYH1、PFDN1、PLK-2、TUBA1B和VIM。

[0436] 45. 如示例34~41中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述一种或多种靶生物标志物选自下组: SNCA、BDNF、CNTF、FGF2、GDNF、NGF2、NTF3、PF4、EDN2、ACE2、IFN- γ 、ARTN、LIF、CBLN1、NRG1、NRG2、NRG4、PSPN、NTF4和TGFA。

[0437] 46. 如示例34~41中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述一种或多种靶生物标志物选自下组: NE、CFL1、NPY、DBN、Ca²⁺、肾素、DBH、AGT、内皮素1、2和3、NTS和APP。

[0438] 47. 如示例34~46中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述生物标志物的神经调节后水平或活性在去神经后10分钟、24小时或7天测定。

[0439] 48. 一种在人对象中进行肾神经调节过程的方法, 所述方法包括:

[0440] 将神经调节组件血管内定位至所述患者肾神经的近端;

[0441] 在定位所述神经调节组件之前或之后测定一种或多种靶生物标志物的基线水平或活性;

[0442] 通过经所述神经调节组件向所述肾神经施加能量来部分干扰所述肾神经的功能;

[0443] 测定神经调节后所述靶生物标志物的水平或活性; 和

[0444] 将所述神经调节后水平或活性与基线水平或活性做比较,

[0445] 其中,若所述神经调节后水平或活性与所述基线水平或活性之间具有显著差异,则将所述神经调节过程归为成功。

[0446] 49.如示例48所述的方法,其特征在于,部分干扰所述肾神经的功能包括减少所述患者内该肾神经的增生。

[0447] 50.如示例48或示例49所述的方法,其特征在于,部分干扰所述肾神经的功能包括将该患者的功能性肾神经的总数减少到或接近在血压正常患者中观察到的水平。

[0448] 51.如示例48~50中任一项所述的方法,其特征在于,所述一种或多种靶生物标志物选自下组:ADRA2b、ATP1A1、BDNF、BMP7、BNP、BTG2、CALCB、CD40L、CDKN1B、CDKN2B/p15、CLU、DNAJA4、DNAJB1、EDN3、ETB、FASLG、FOS、HMOX-1、HSPA5、HSPA14、HSPB1、HSPD1、HSPH1、IL-10、ITGAM、KLKB1、LIF、MC2R、NTF3、P2RY12、SELE、SLC2A5/GLUT5、SOD2、TLR3、TLR4、TLR7和TNFRSF1B。

[0449] 52.如示例48~50中任一项所述的方法,其特征在于,所述一种或多种靶生物标志物选自下组:CASP10、CCL13、CCND1、CD70、CRYAB、CPS1、DNAJB1、DNAJB11、HSPA1A、HSPA1B、HSPB6、IL-10、KIT、LTA、MYLK3、NODAL、NPY1R、POU1F1和TCP1。

[0450] 53.如示例48~50中任一项所述的方法,其特征在于,所述一种或多种靶生物标志物选自下组:ACTA2、CACY/2A9、CFL1、CTAG1A1/CTAG21、LDHA、MGC141/TMEM141、NAA20/NAT5、NM23B、PAHX/PHYH1、PFDN1、PLK-2、TUBA1B和VIM。

[0451] 54.如示例48~50中任一项所述的方法,其特征在于,所述一种或多种靶生物标志物选自下组:SNCA、BDNF、CNTF、FGF2、GDNF、NGF2、NTF3、PF4、EDN2、ACE2、IFN- γ 、ARTN、LIF、CBLN1、NRG1、NRG2、NRG4、PSPN、NTF4和TGFA。

[0452] 55.如示例48~50中任一项所述的方法,其特征在于,所述一种或多种靶生物标志物选自下组:NE、CFL1、NPY、DBN、Ca²⁺、肾素、DBH、AGT、内皮素1、2和3、NTS和APP。

[0453] 56.一种测定人患者内生物标志物活性的方法,所述方法包括:

[0454] 将导管的能量递送元件经腔定位于所述患者目标血管内,并邻近目标神经纤维;

[0455] 通过该能量递送元件至少部分融除所述目标神经纤维;

[0456] 在所述导管的捕获隔室中捕获多个至少一种类型的生物标志物,其中所述生物标志物因融除过程而分泌;

[0457] 将所述至少一种类型的多种生物标志物分隔在所述捕获隔室内以浓缩所述生物标志物;

[0458] 使所述生物标志物与布置在所述捕获隔室的内表面上的至少一种固定的捕获剂结合;和

[0459] 检测所述生物标志物的浓度,其中所述浓度至少部分对应于所述目标神经纤维的融除程度。

[0460] 57.如示例56所述的方法,其特征在于,所述导管还包含位于所述捕获隔室远端末端的远端滤器,并且其中在所述导管的捕获隔室中捕获多个至少一种类型的生物标志物,所述方法包括:允许所述生物标志物通过所述远端滤器进入所述捕获隔室,同时防止其它生物分子通过该远端滤器进入所述捕获隔室。

[0461] 58.如示例56或示例57所述的方法,其特征在于,所述导管还包含位于所述捕获

隔壁近端末端的近端滤器,并且其中在所述导管的捕获隔壁中捕获多个至少一种类型的生物标志物,所述方法包括:防止所述生物标志物通过所述近端滤器流出所述捕获隔壁,同时允许血液流经通过该近端滤器流出所述捕获隔壁。

[0462] 59.如示例56~58中任一项所述的方法,其特征在于,所述导管的捕获隔壁在捕获所述生物标志物时位于所述患者内部。

[0463] 60.如示例56~58中任一项所述的方法,其特征在于,所述导管的捕获隔壁在捕获所述生物标志物时位于所述患者外部。

[0464] 61.一种监测人对象中肾神经调节过程的功效的方法,所述方法包括:

[0465] 测定一种或多种靶生物标志物的基线水平或活性;

[0466] 通过神经调节组件至少部分抑制所述对象肾神经内的交感神经活性;

[0467] 测定所述一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性;和

[0468] 将所述一种或多种靶生物标志物的神经调节后水平或活性与预定阈值水平或活性做比较,其中,若所述神经调节后水平或活性大于预定的阈值水平或活性,则将所述神经调节过程归为成功。

[0469] 62.用于进行如示例34、48、56或61中任一项所述方法的装置。

[0470] 63.一种系统,所述系统包含:

[0471] 长轴,所述长轴包含设置以腔内递送至人患者的动脉的远端部分;

[0472] 通过所述远端部分连接至所述轴的神经调节和取样组件,所述组件包含——

[0473] 能量递送元件,所述能量递送元件设置为调节位于患者动脉的至少近端的神经,

[0474] 取样口,所述取样口设置为在血管内所述治疗位点处或附近获得患者生物样品;

[0475] 位于所述取样口近端的闭塞构件,其中所述闭塞构件具有一个或多个压强传感器;

[0476] 与所述一个或多个压强传感器可操作地连接的控制器,所述控制器包含存储器和处理电路,所述存储器储存指令,从而在采用该处理电路由所述控制器执行所述指令时,造成——

[0477] 所述控制器通过所述一个或多个压强传感器获得闭塞构件压强测量值;和

[0478] 所述闭塞构件基于所述闭塞构件的压强测量值展开至一定体积。

[0479] 结论

[0480] 上述关于本技术实施方式的详细描述的目的仅在于说明但不意在详尽或限制本技术于上文公开的实践形式。相关领域的技术人员应理解,在本技术的范围内可能有多种等同变化形式。例如,尽管步骤可以给定顺序展示,替代性的实施方式可以不同顺序完成步骤。也可以组合本文所述的各种实施方式及其元素以提供进一步的实施方式。在一些情况下,没有显示或详细描述为人熟知的结构和功能,以避免不必要地使本技术实施方式的描述模糊。

[0481] 从上述应理解本文出于说明目的描述了本技术的特定实施方式,但是熟知结构和功能没有详细显示或描述以避免本技术实施方式的描述发生不必要的模糊。上下文允许时,单个或多个术语也可分别包含多个或单个术语。

[0482] 本技术的某些方面可采取计算机执行指令的形式,包括由控制器或其它数据处理单元执行常规程序。在一些实施方式中,控制器或其它数据处理单元经特异性地编程、设置

和/或构造以执行这些计算机可执行指令中的一条或多条。此外，本技术的一些方面可采取将数据(例如，非瞬时数据)储存或分布在计算机可读介质中的形式，所述计算机可读介质包括磁性或光学可读的和/或可移动计算机储存盘，以及在网络上电子分布的介质。因此，为本技术方面所特有的数据结构和数据传输也被涵盖在本技术范围内。本技术还涵盖对计算机可读介质编程以进行特定步骤和执行所述步骤的方法。

[0483] 另外，除非单词“或者”明确限于指仅一个物品，排除涉及两个或多个物品列表的其他物品，则所述列表中使用“或者”解释为包含(a)列表中的任何单个物品，(b)列表中的所有物品或(c)列表中物品的任何组合。另外，术语“包含”通篇用于指包含至少所述特性，从而不排除任何更大数量的相同特性和/或额外类型的其他特性。也了解本文描述特定实施方式用于说明目的，但是可以进行各种修改而不偏离本技术。此外，尽管与在某些实施方式的内容中已经描述了本技术这些实施方式相关的优势，其它实施方式也可显示此类优势，并且并非所有实施方式必需显示此类优势以落在本技术范围内。因此，本公开内容和相关技术可涵盖未在本文中清楚显示或描述的其它实施方式。

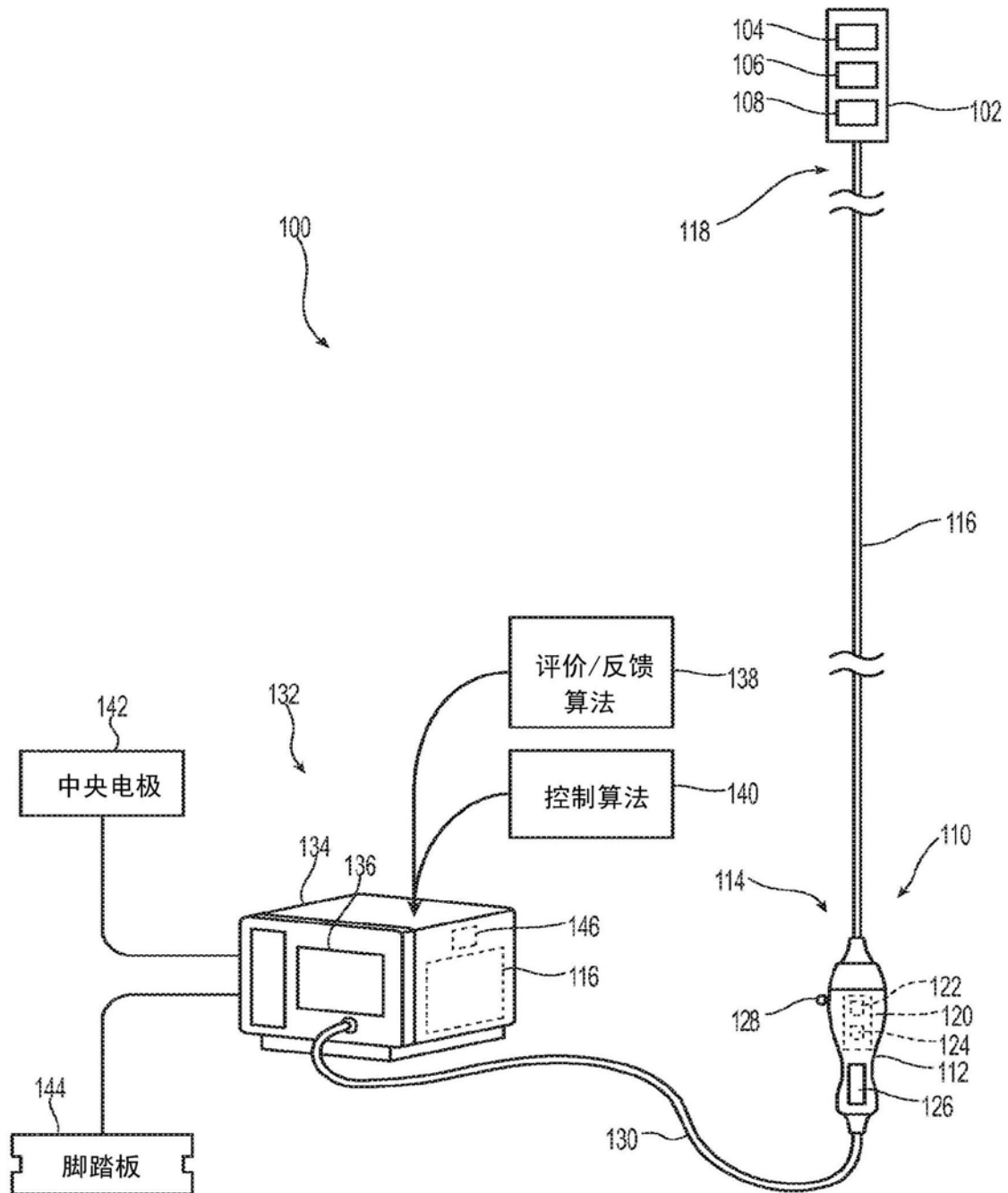


图1

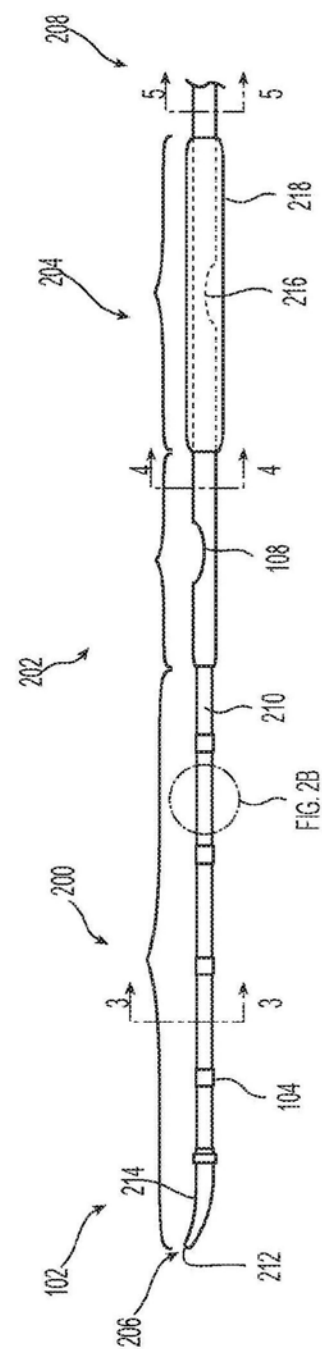


图2A

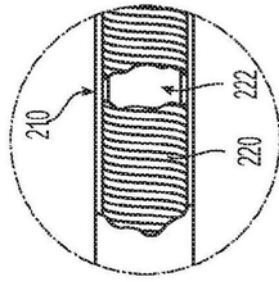


图2B

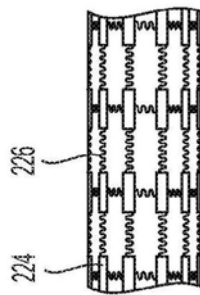


图2C

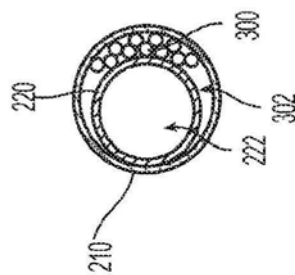


图3

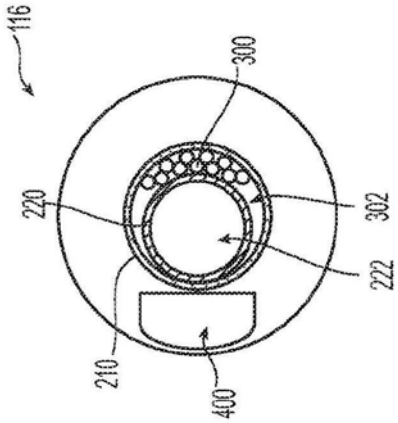


图4

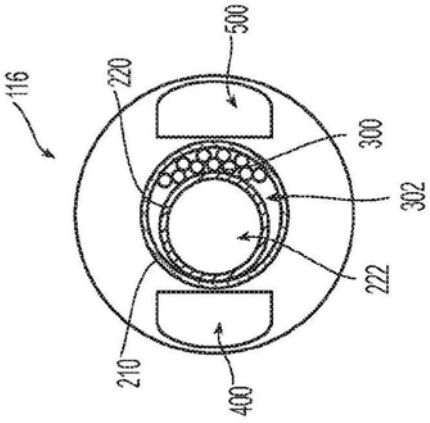


图5

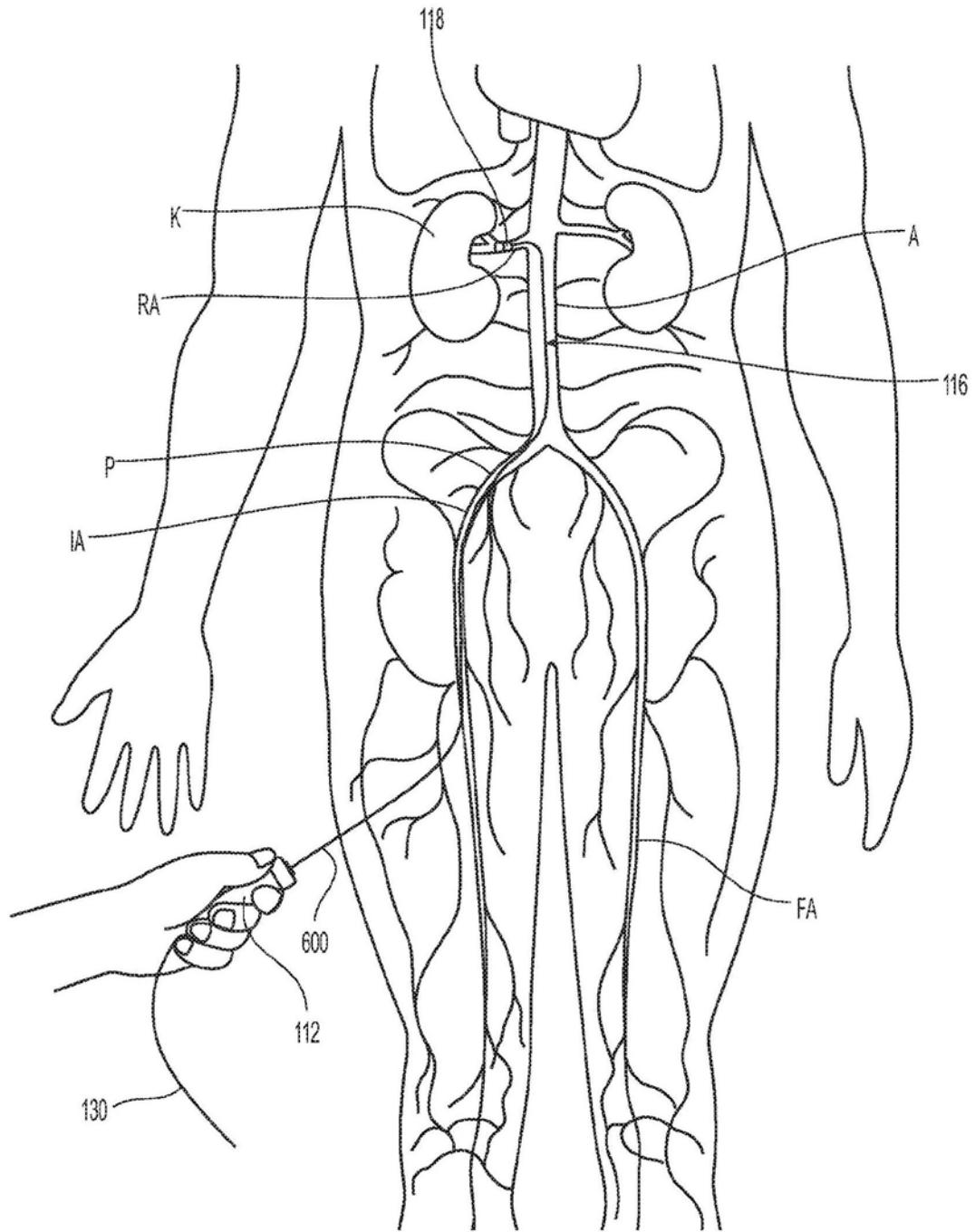


图6A

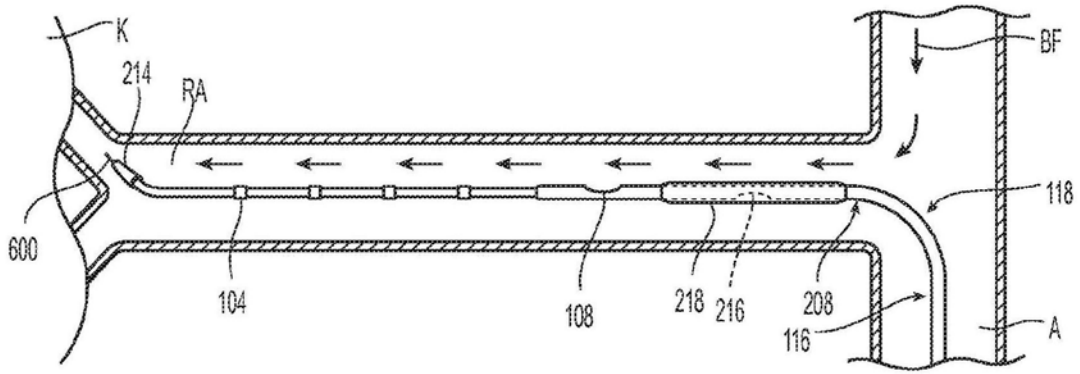


图6B

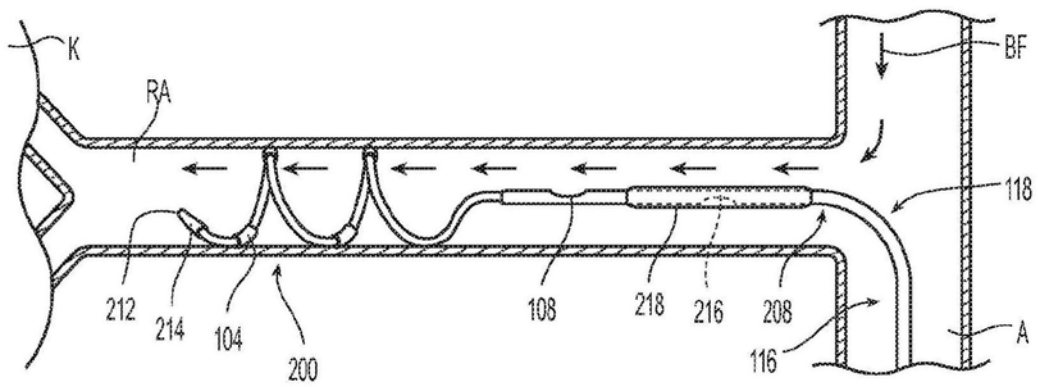


图6C

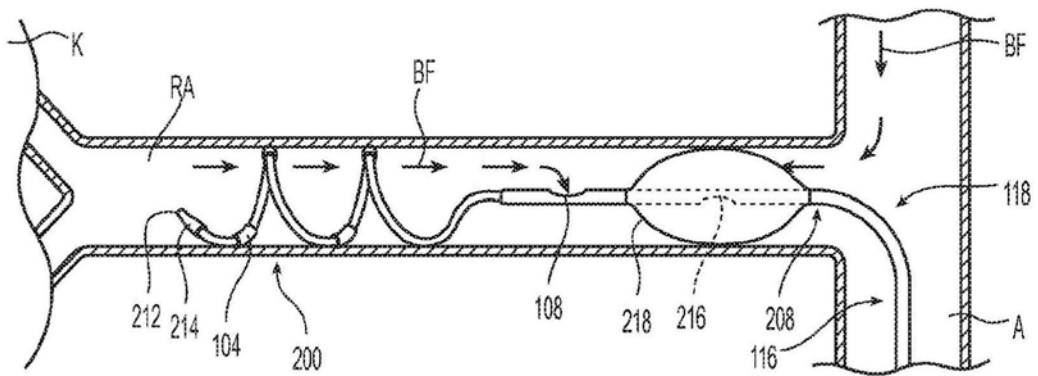


图6D

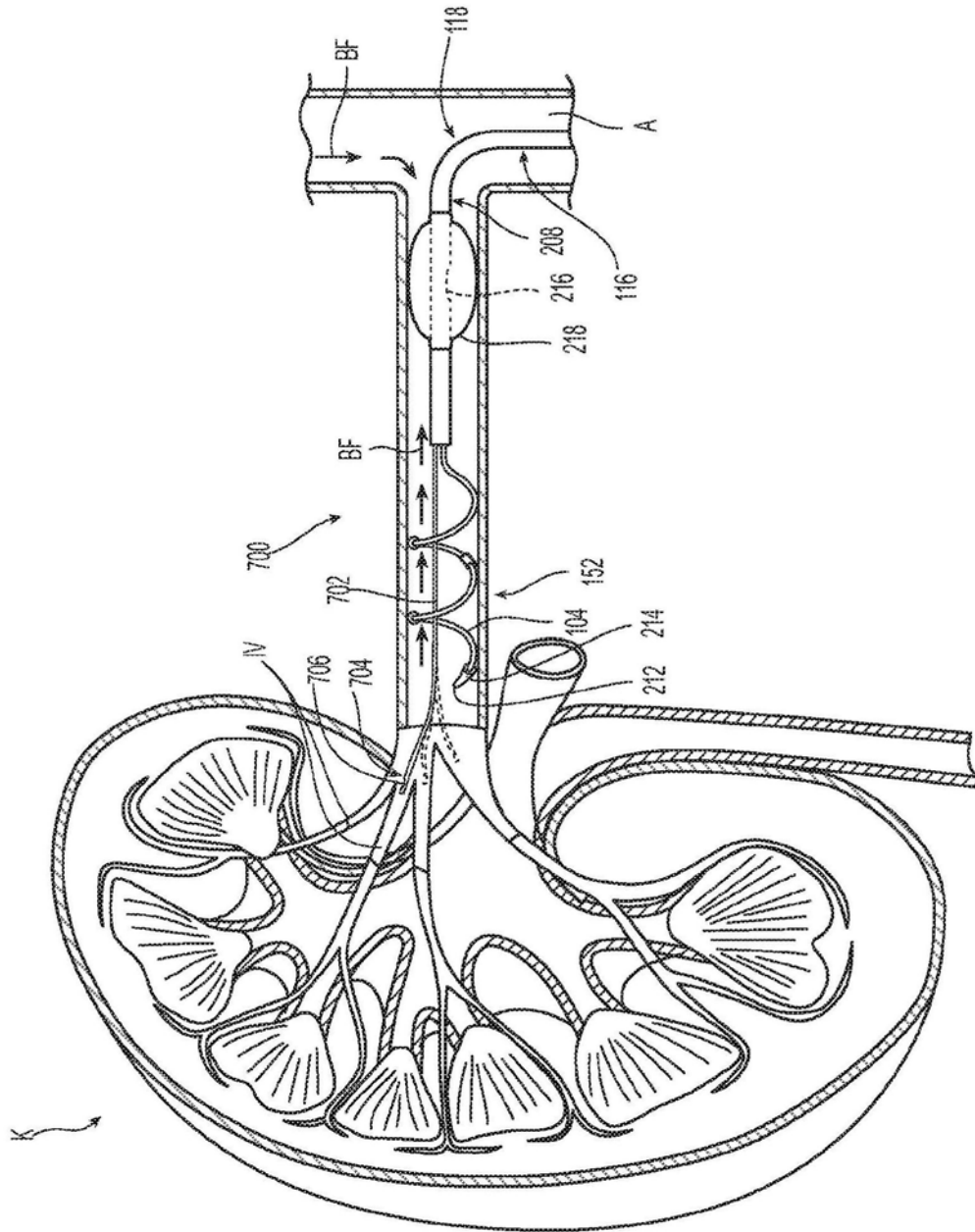


图7

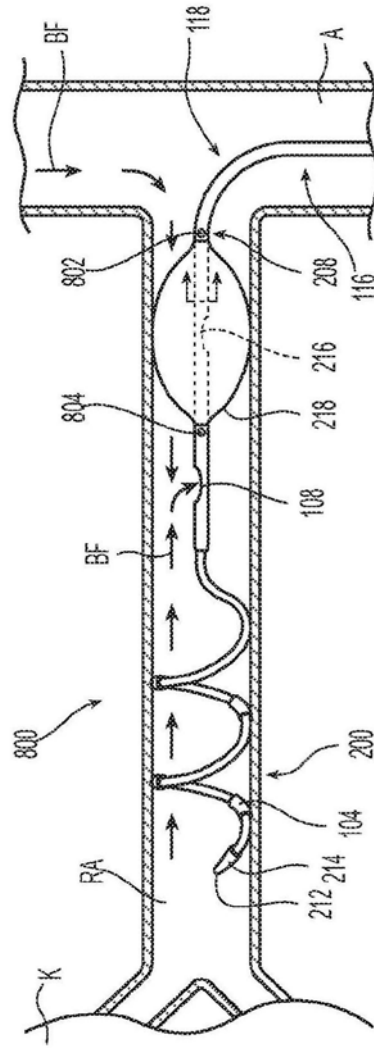


图8

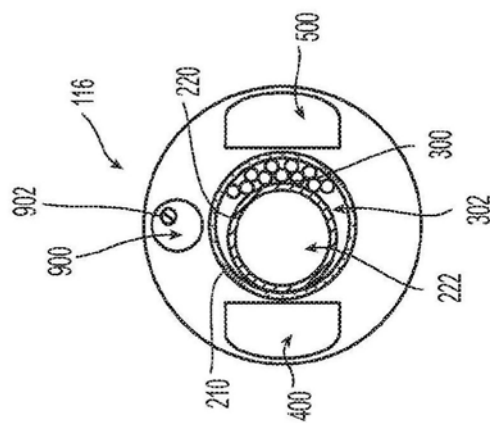


图9

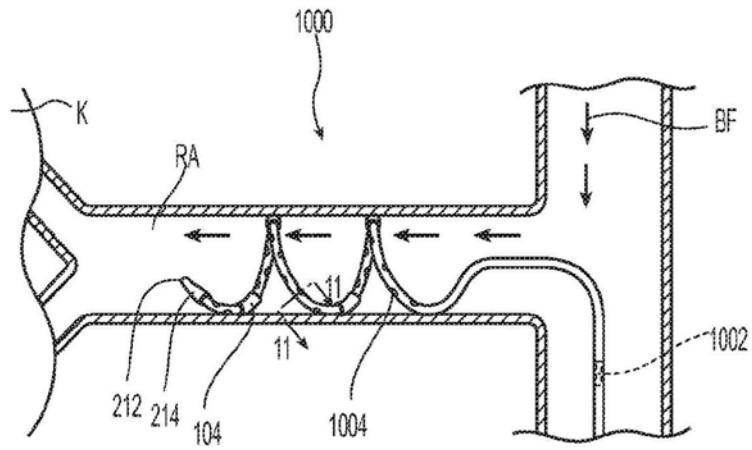


图10

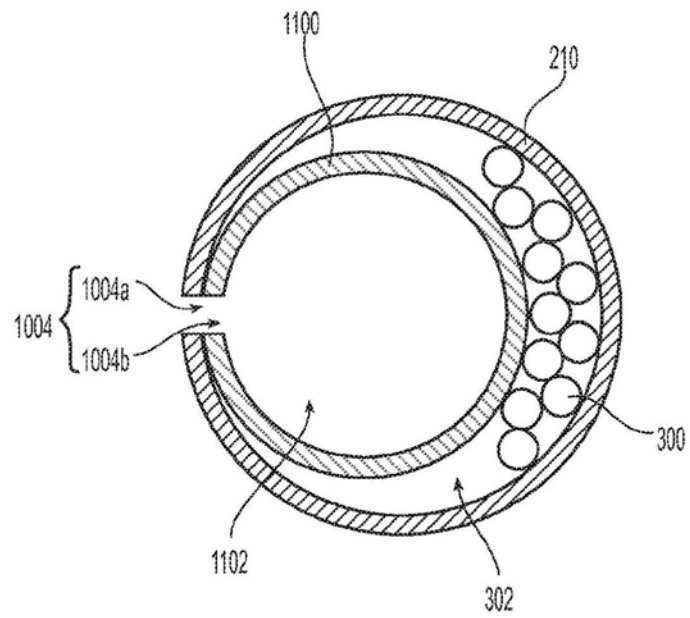


图11

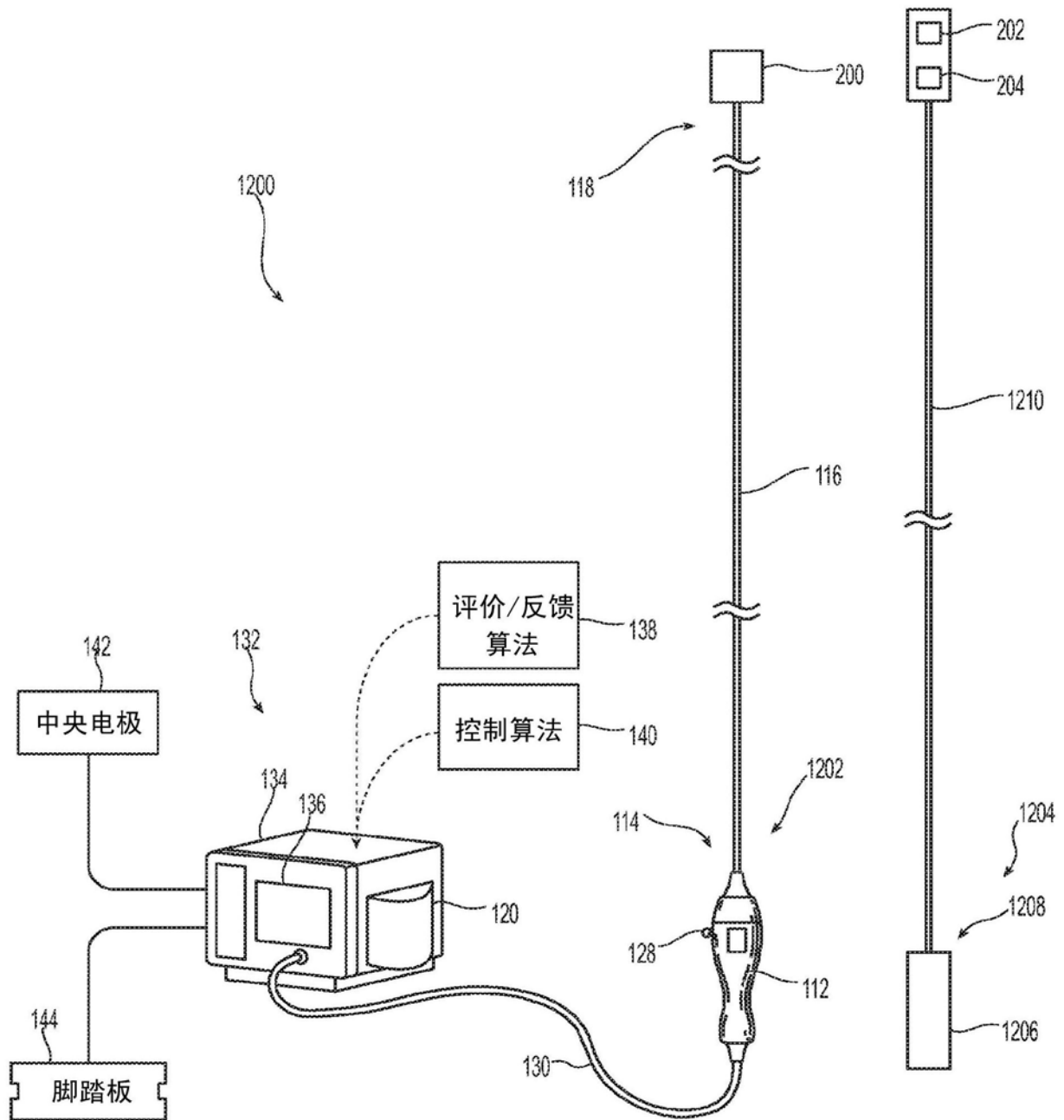


图12

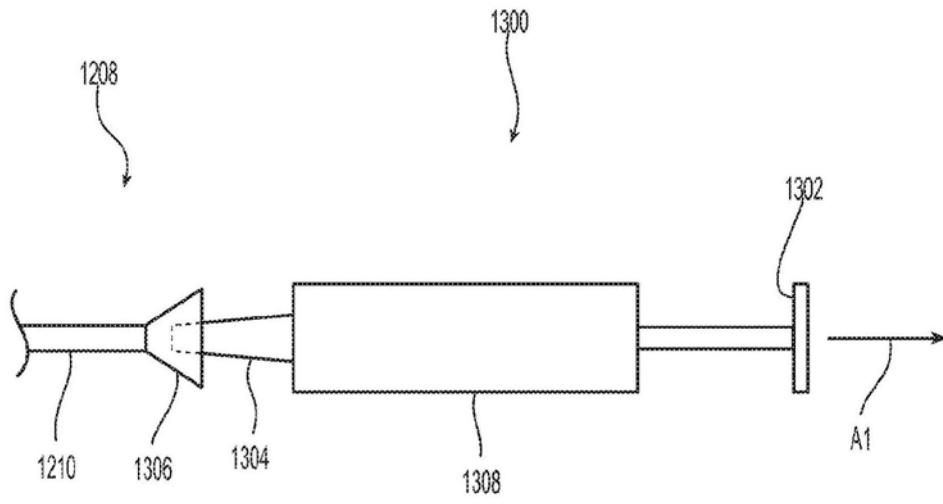


图13A

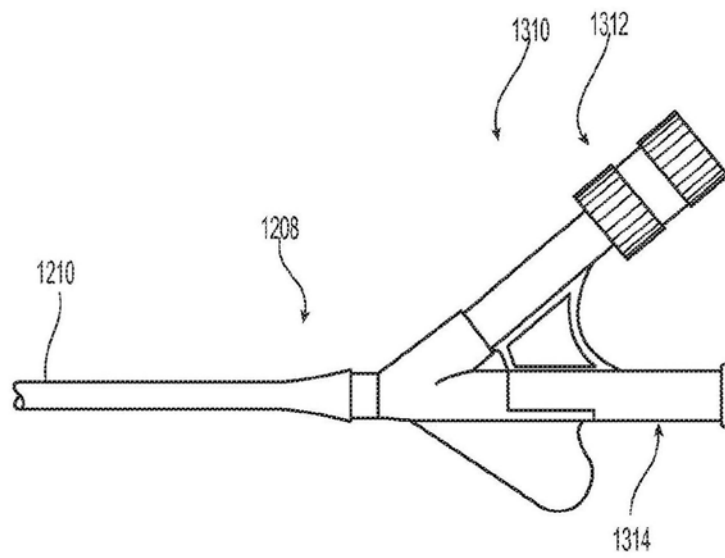


图13B

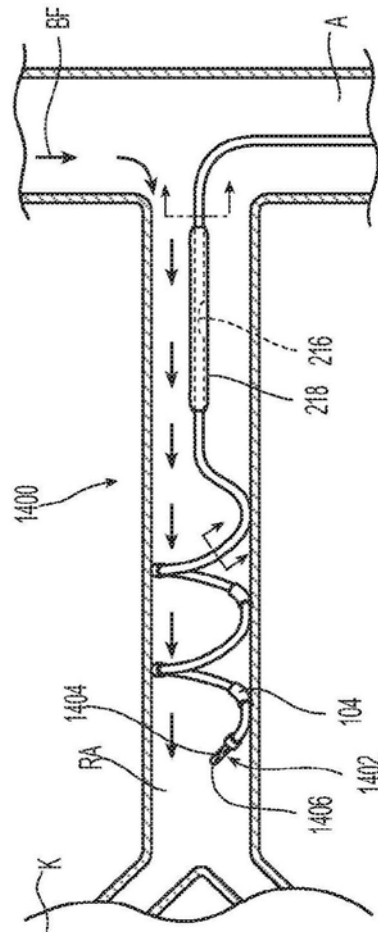


图14

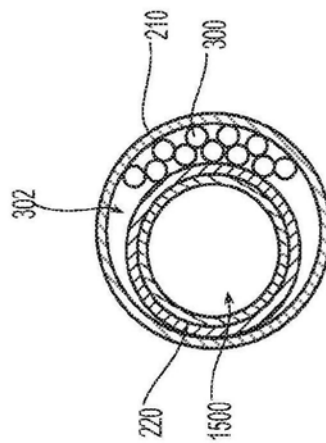


图15

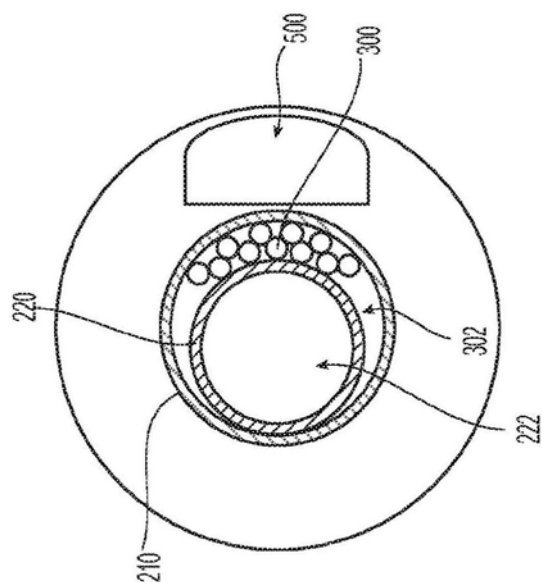


图16

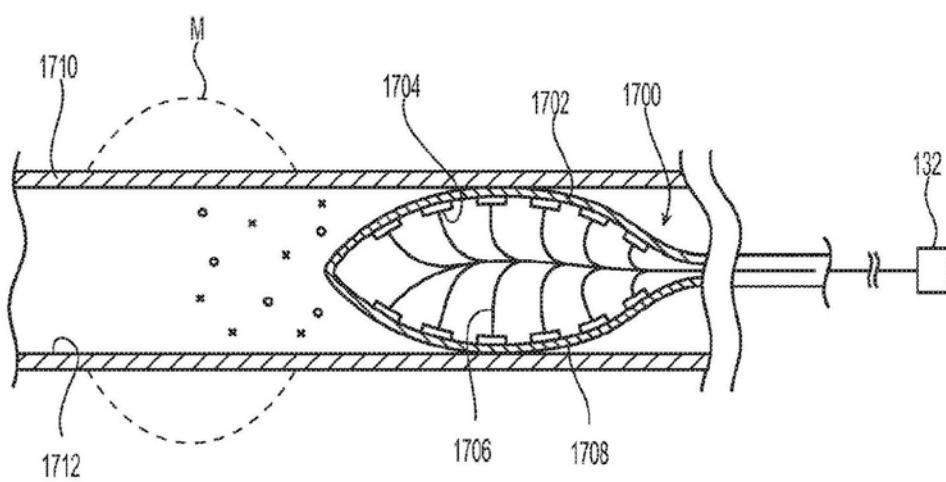


图17

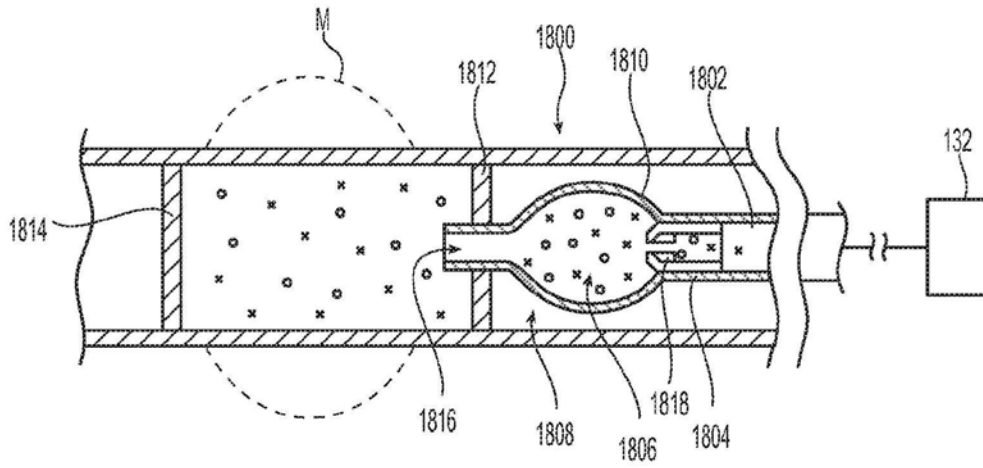


图18

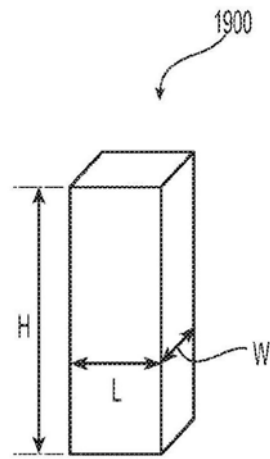


图19

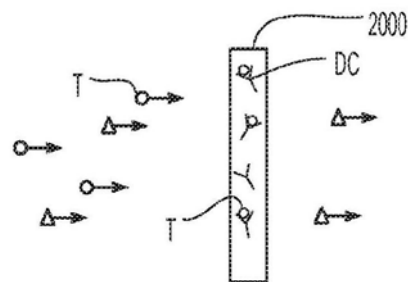


图20A

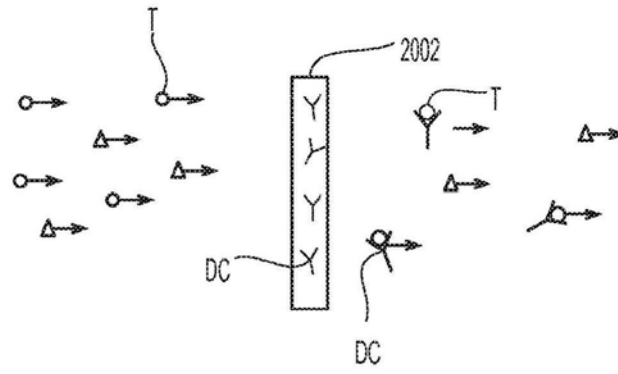


图20B

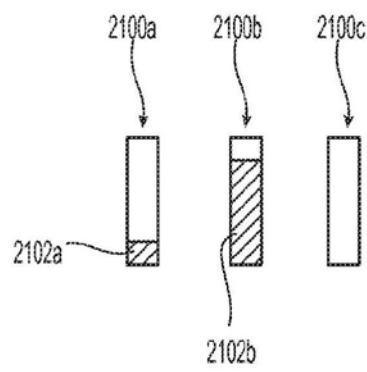


图21

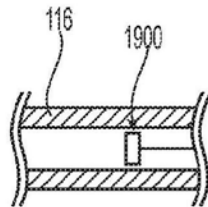


图22A

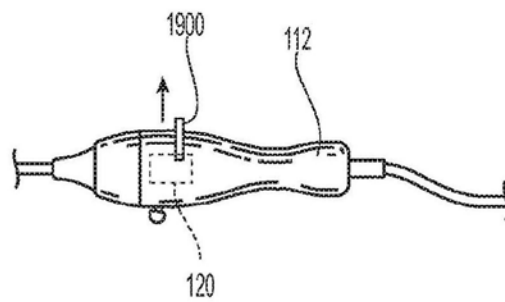


图22B

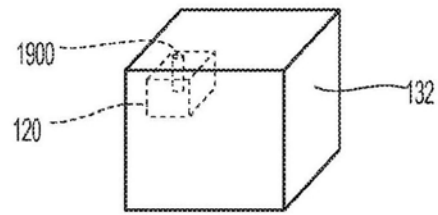


图22C

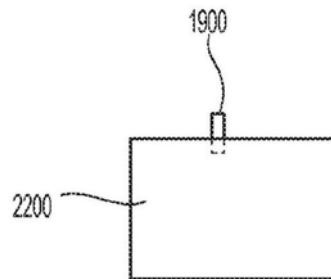


图22D

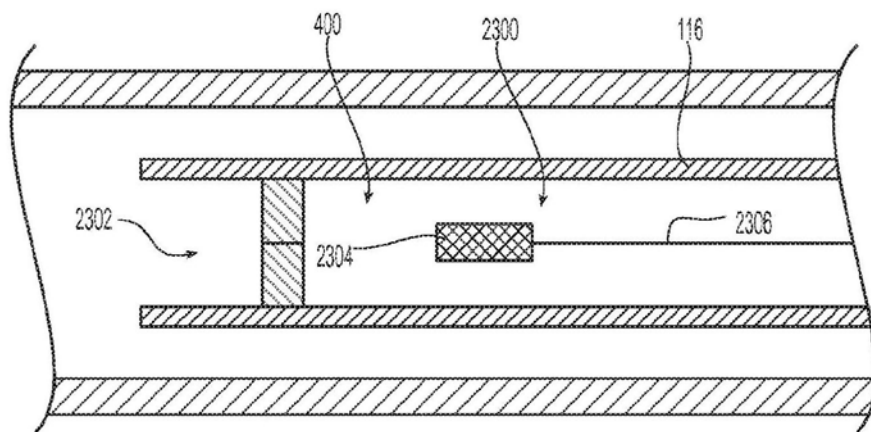


图23

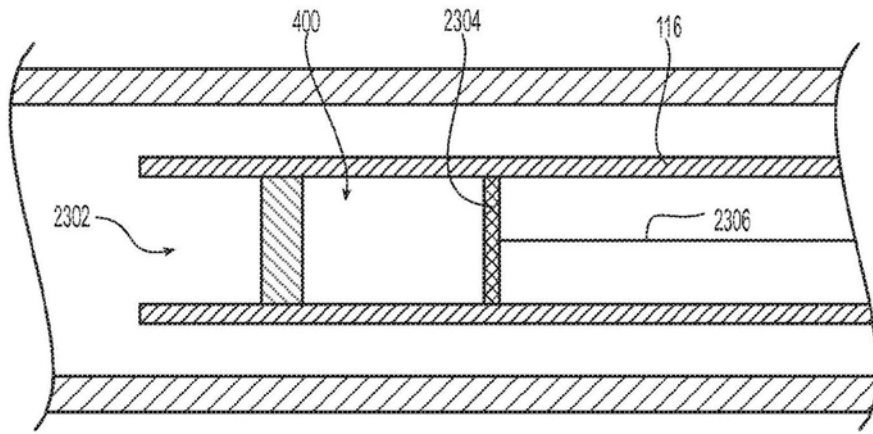


图24

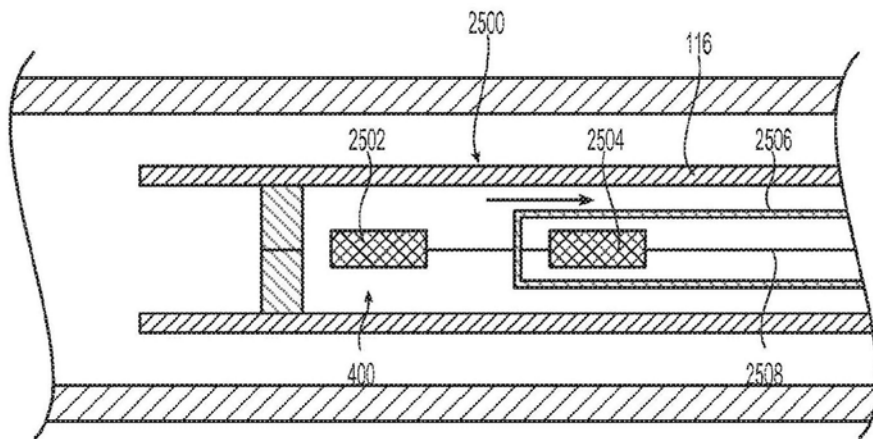


图25

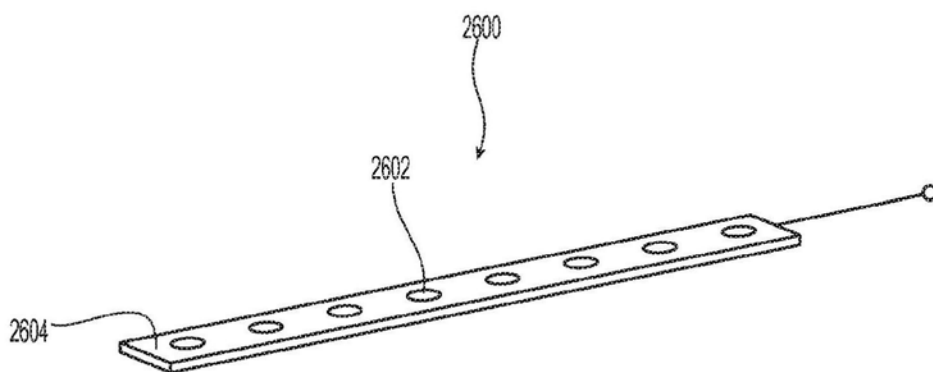


图26A

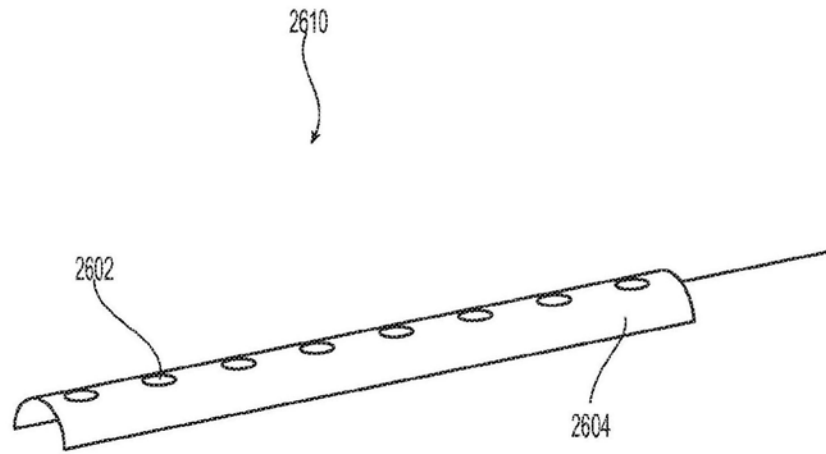


图26B

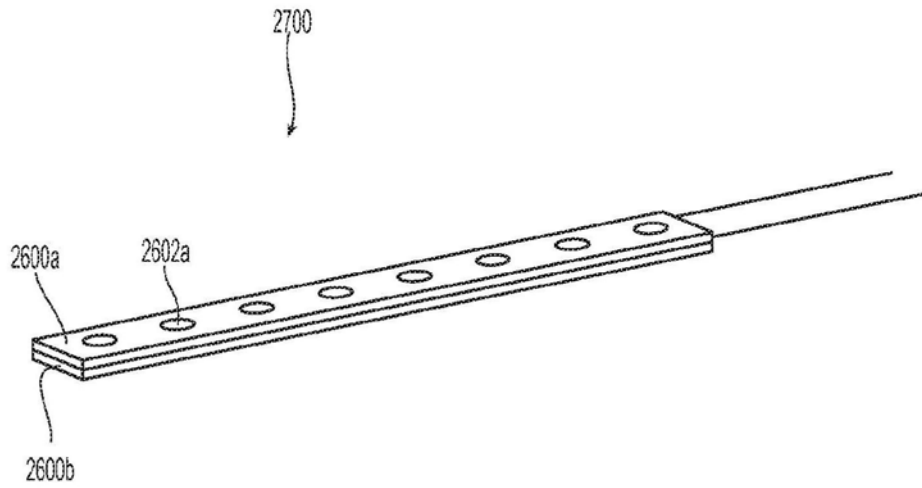


图27A

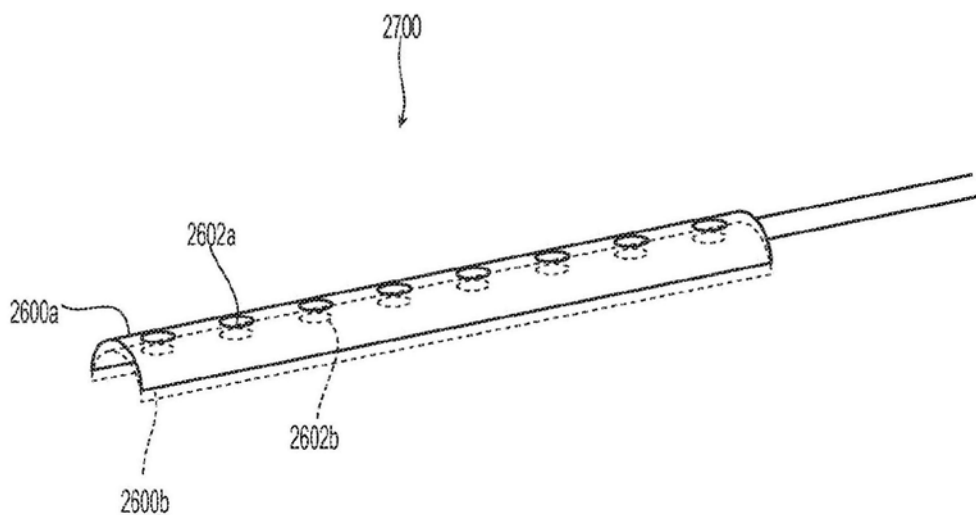


图27B

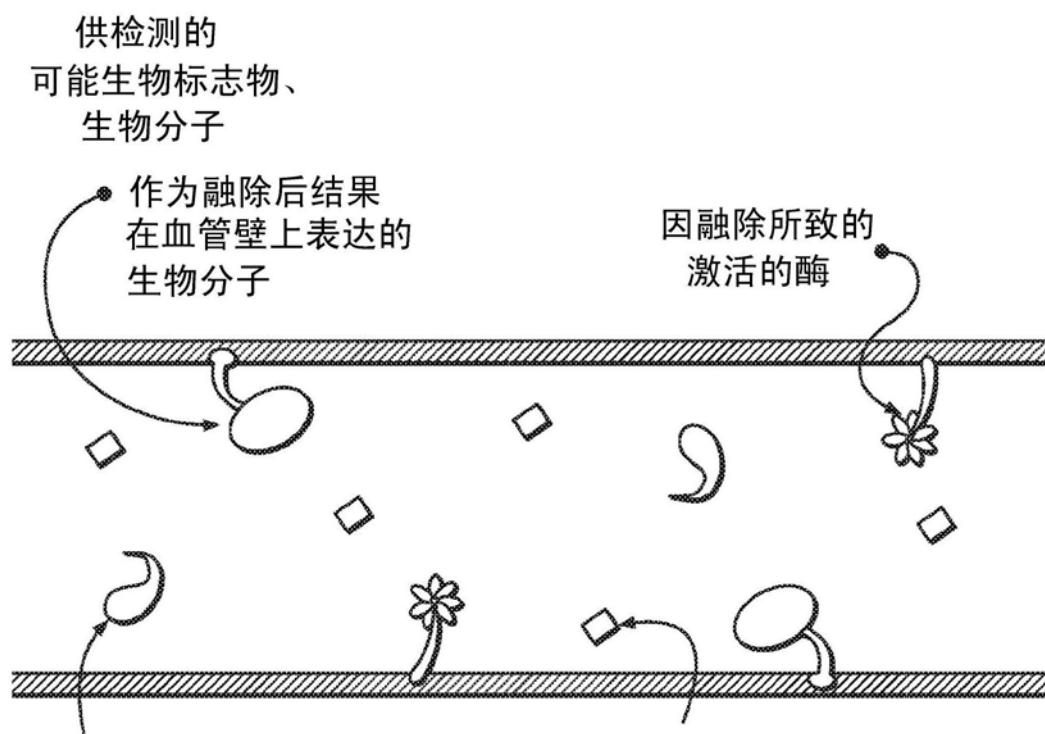


图28

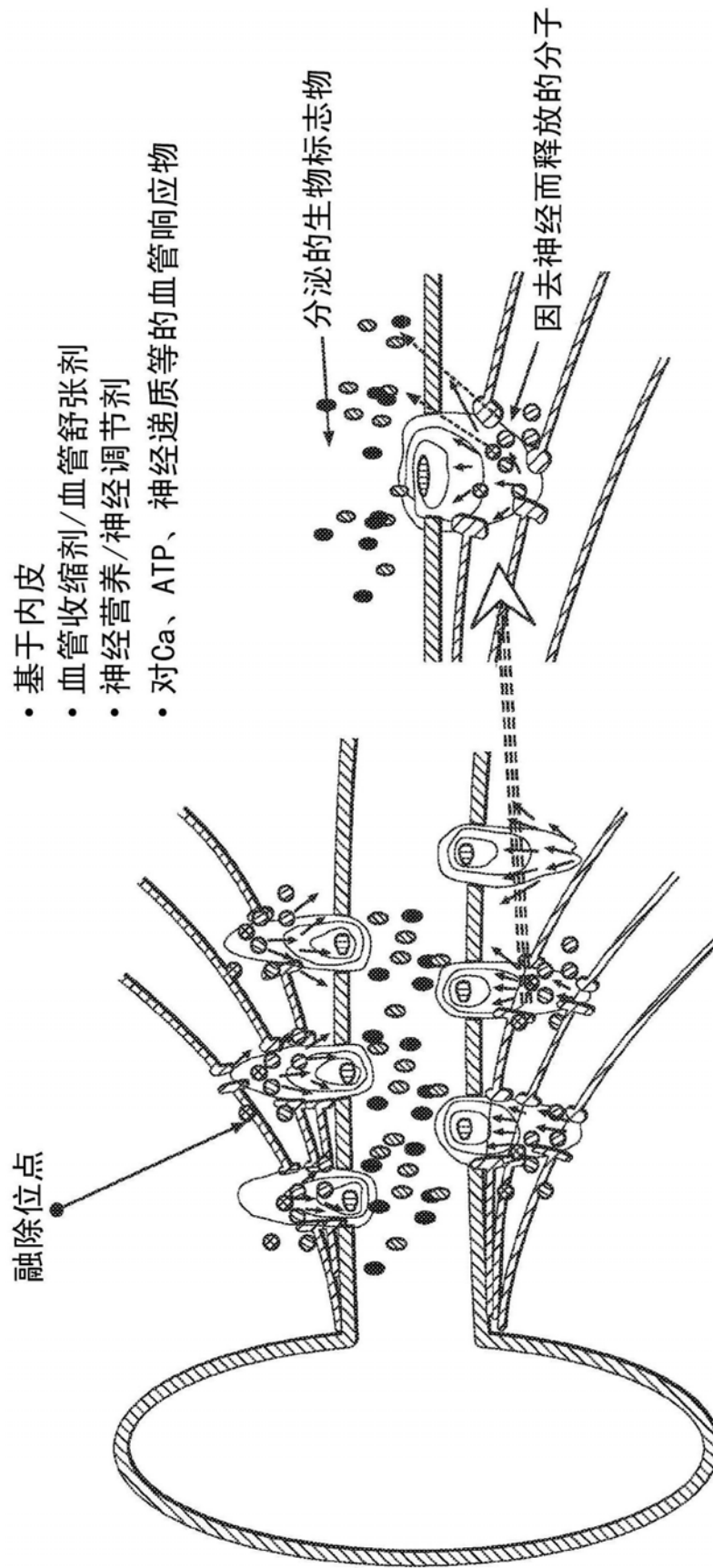


图29

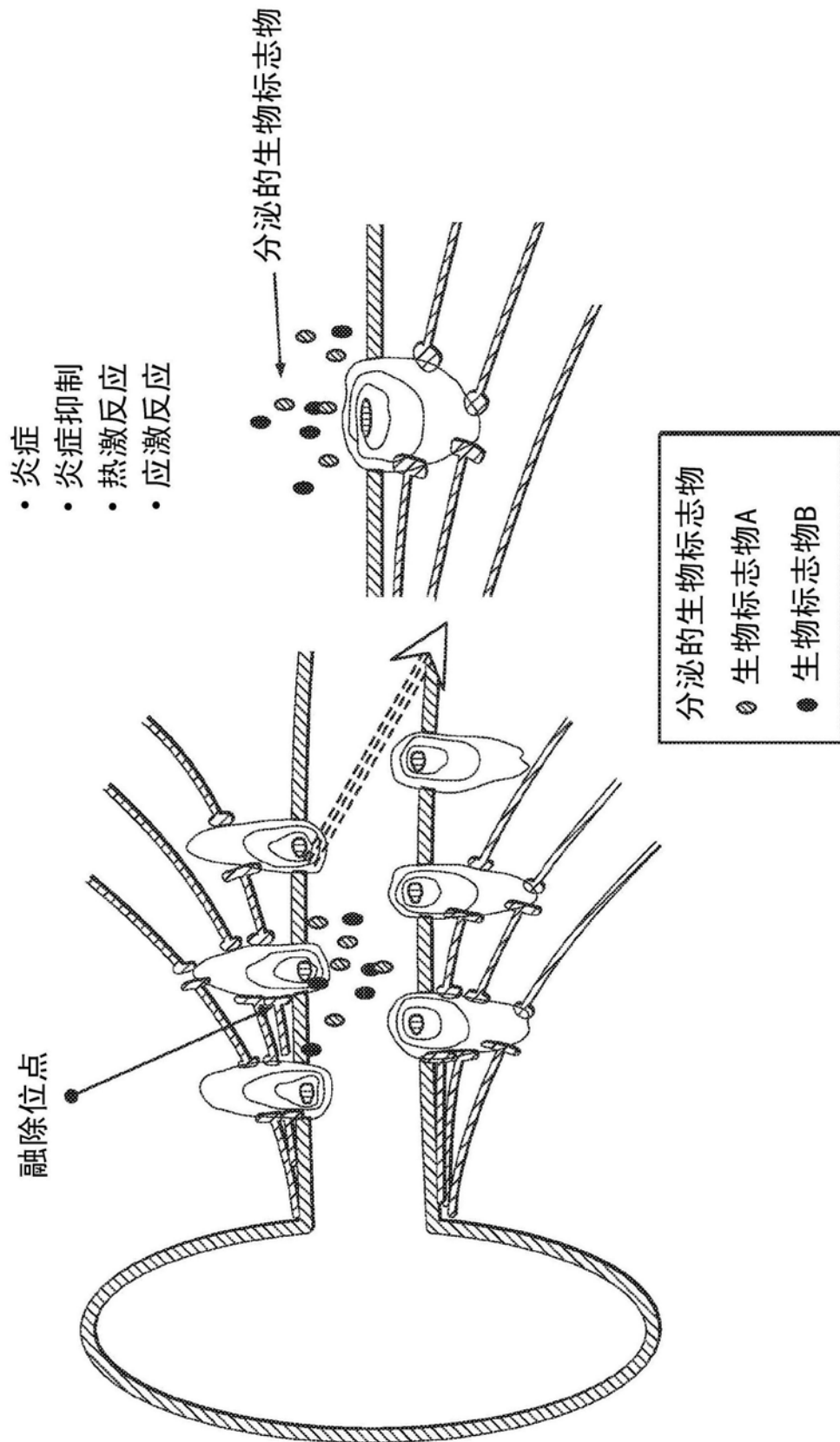


图30

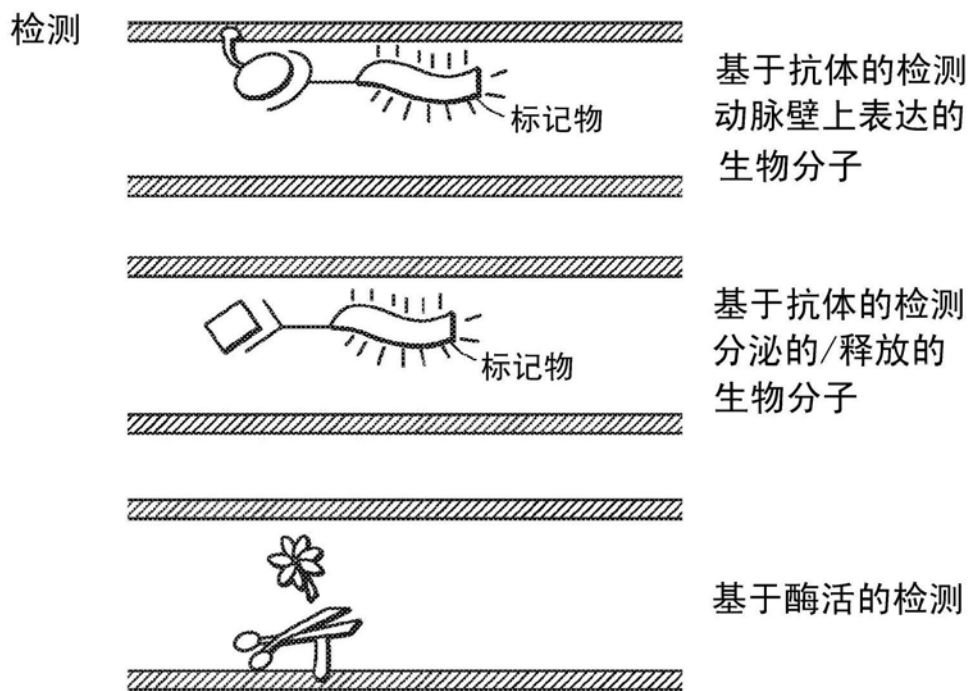


图31

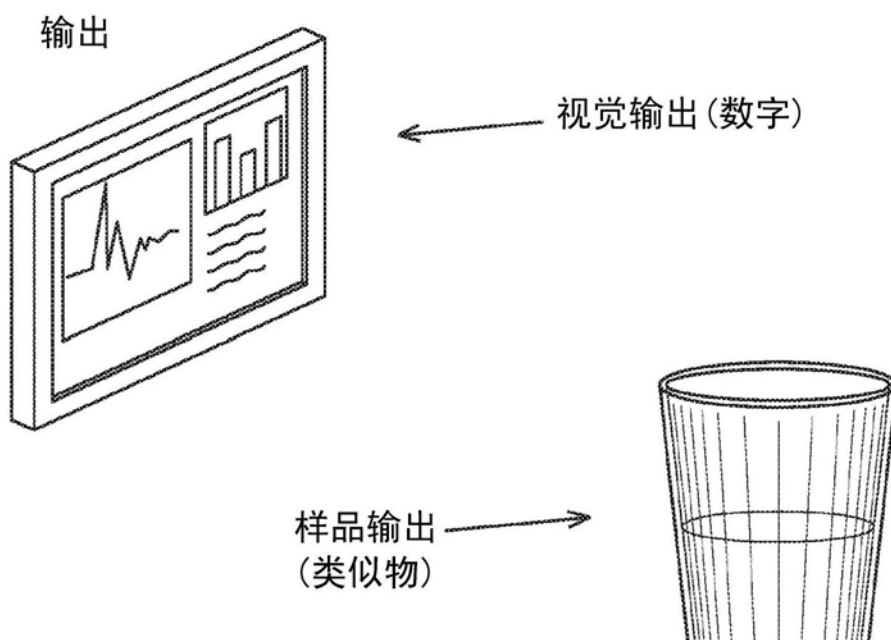


图32

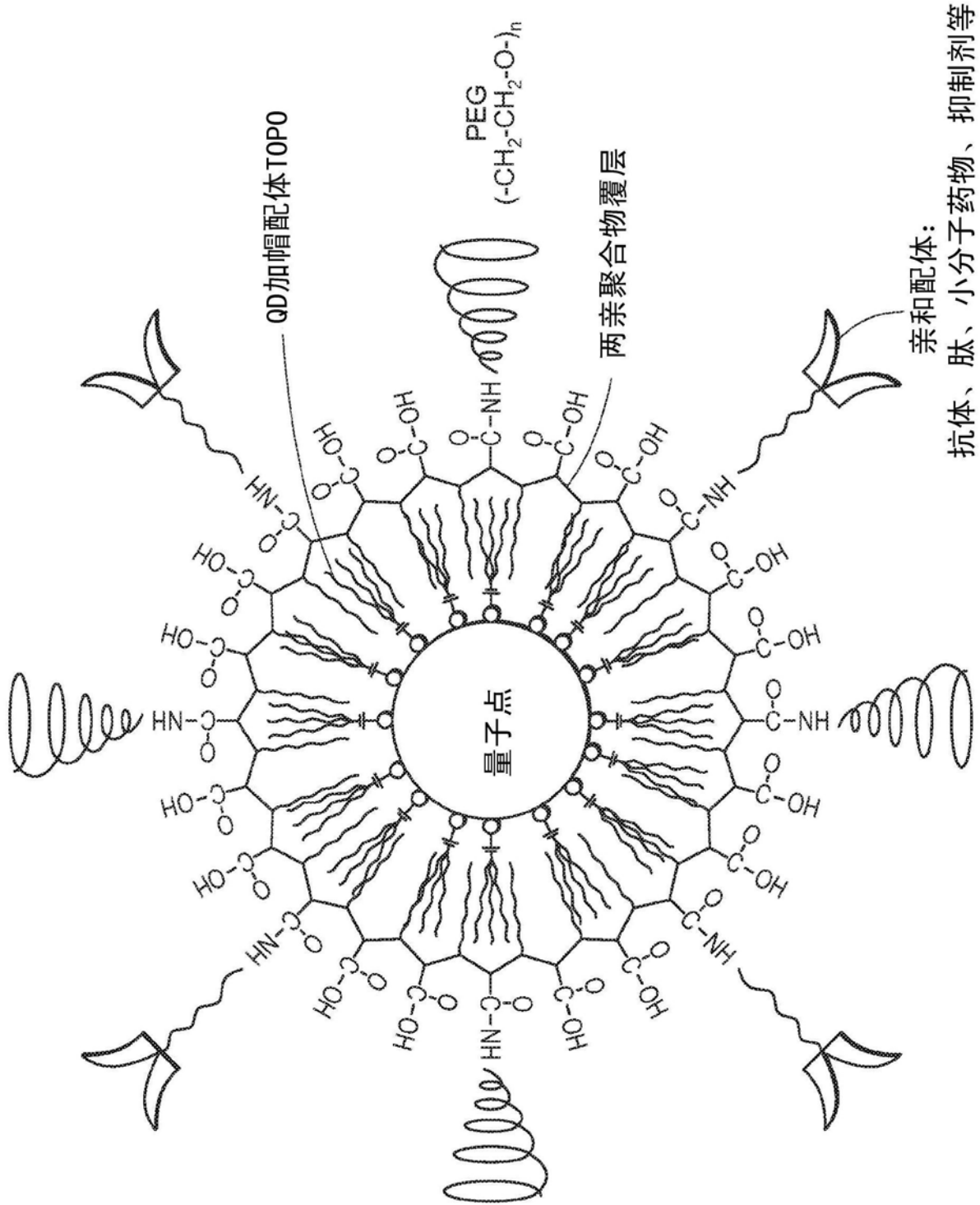
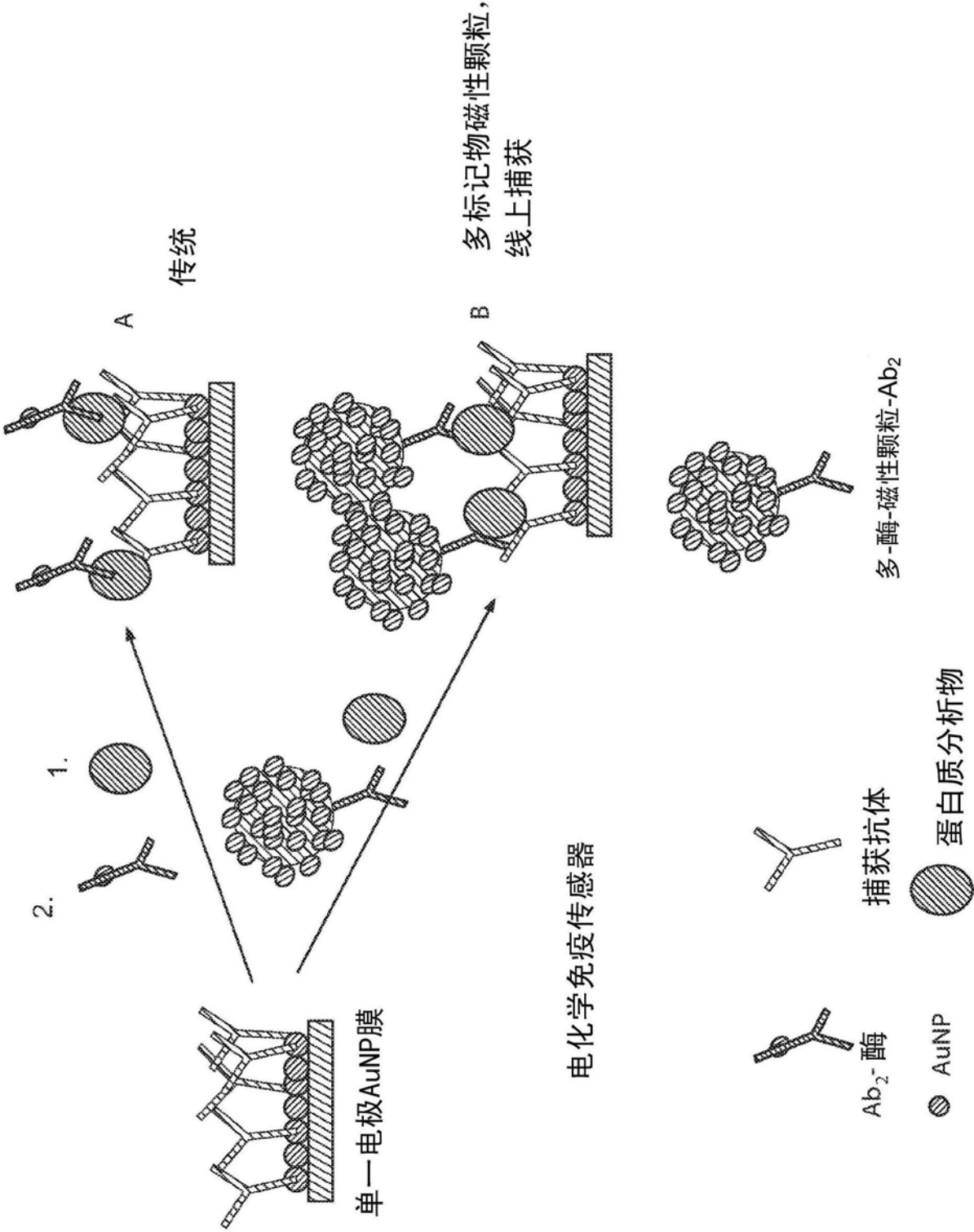


图33



捕获

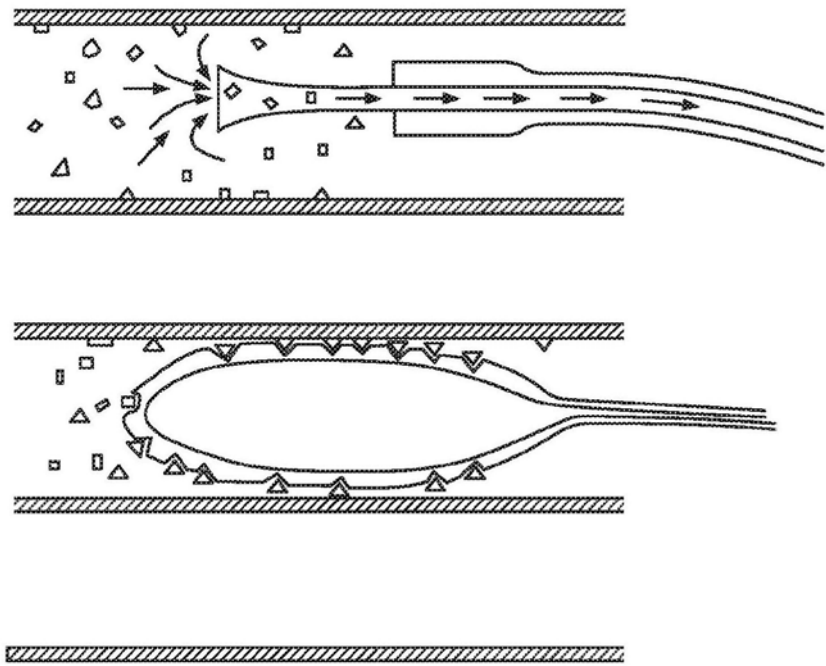
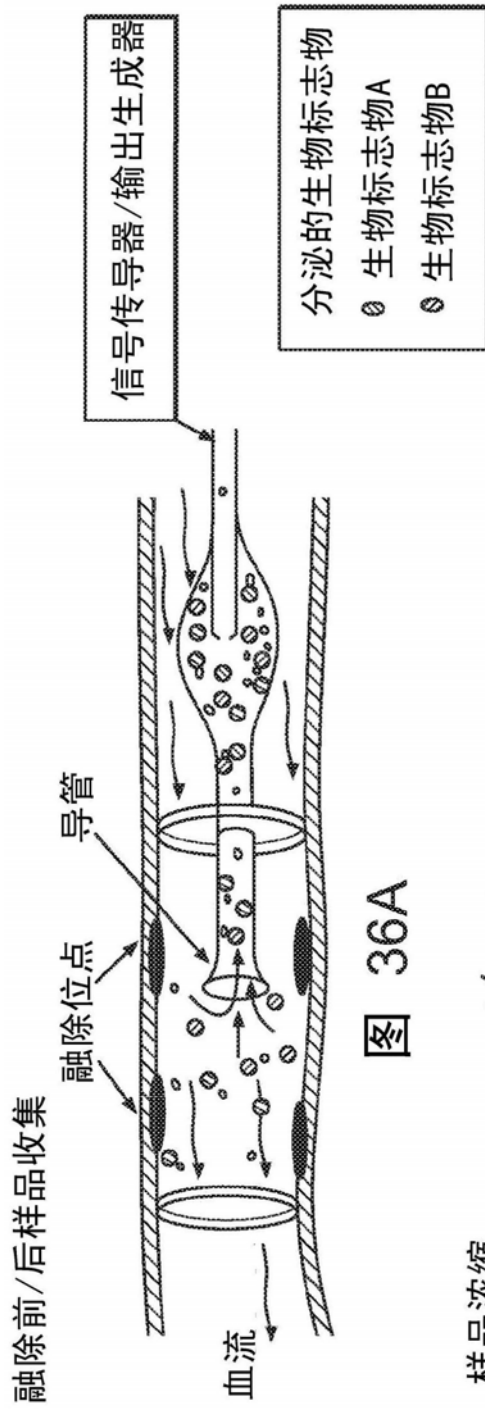
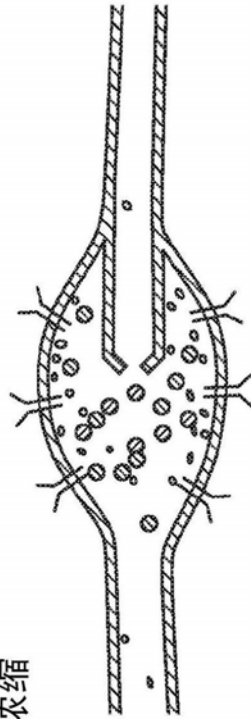


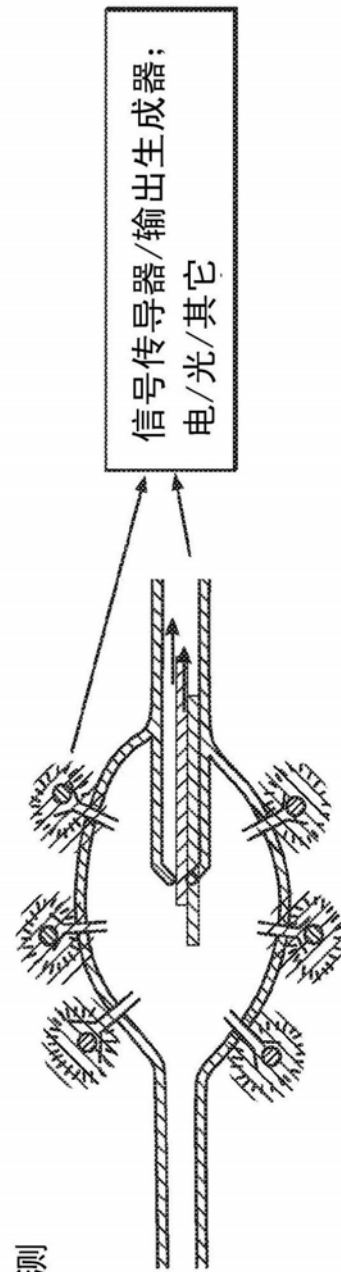
图35



样品浓缩



信号检测



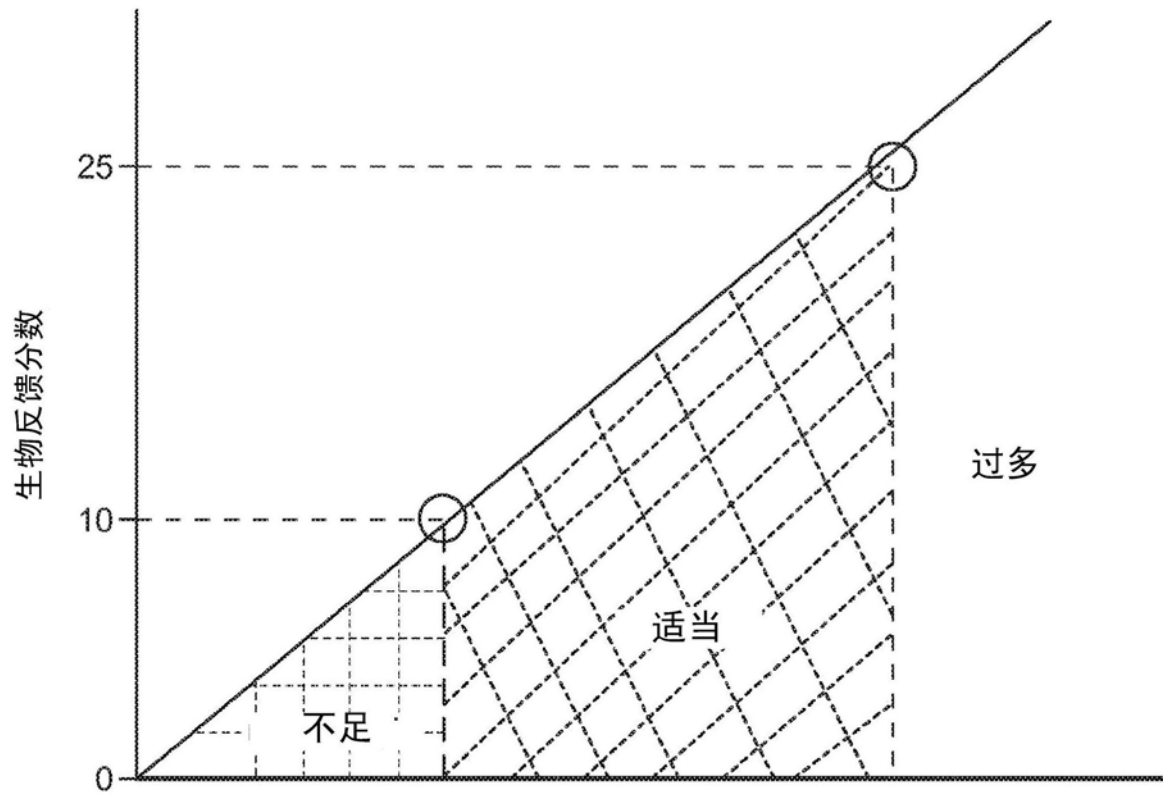


图37

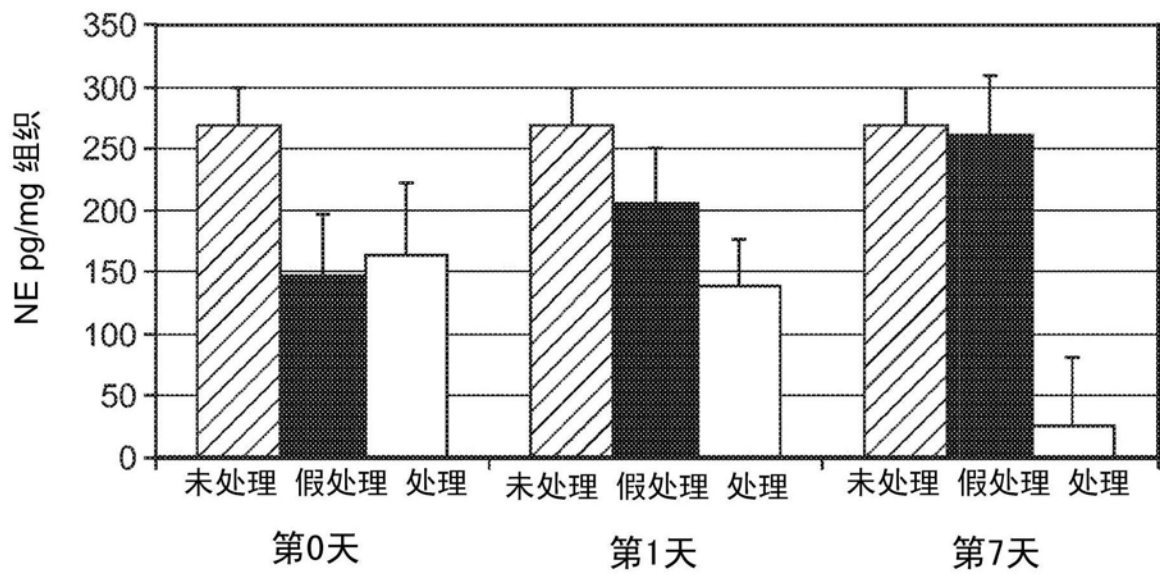


图38

BDNF（脑源性神经营养因子）—融除后10分钟

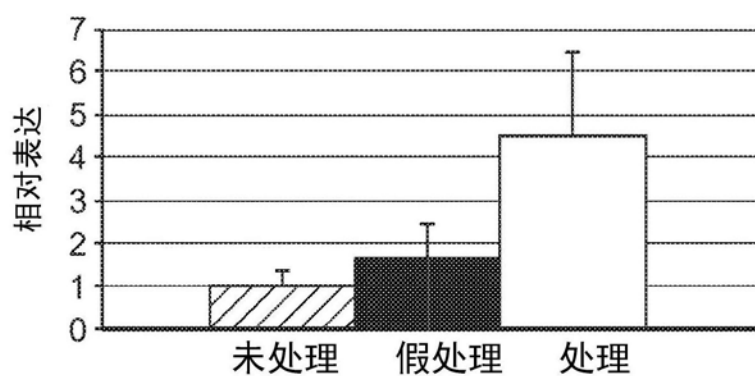


图39

降钙素B—融除后10分钟

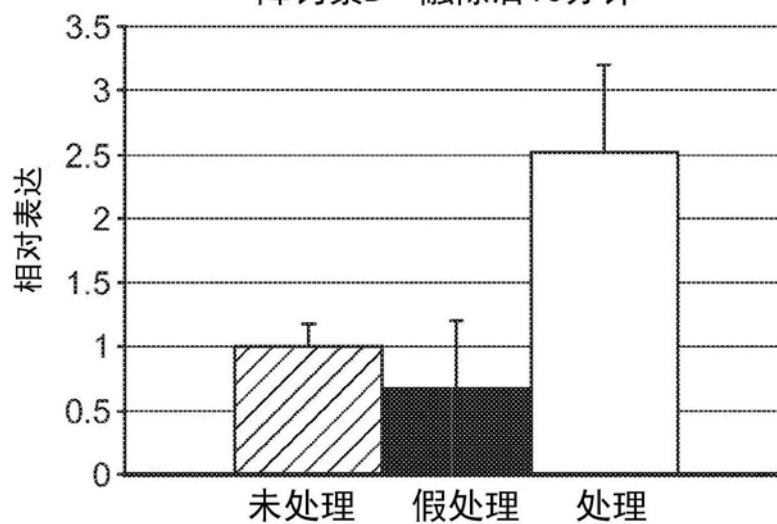


图40

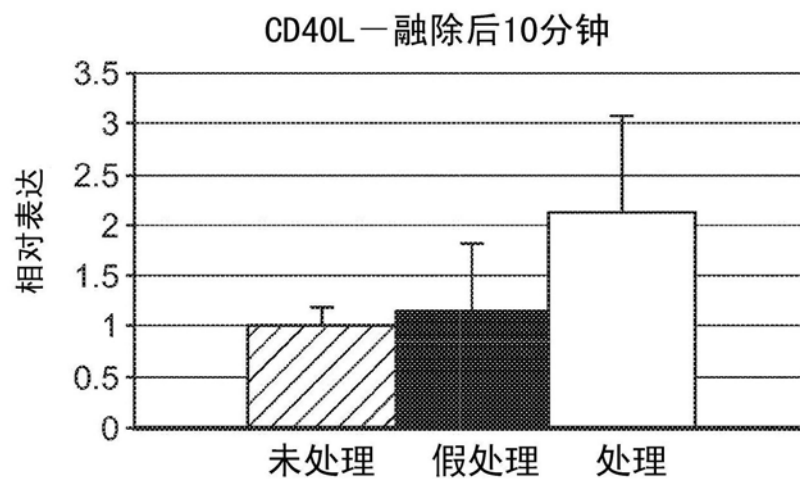


图41

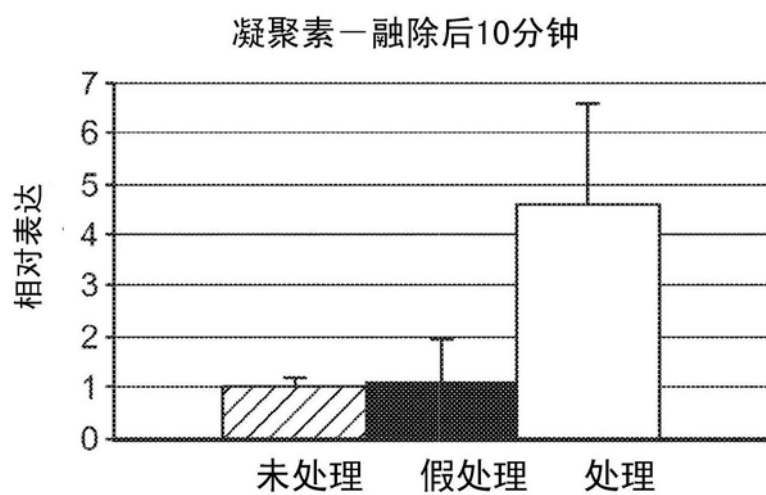


图42

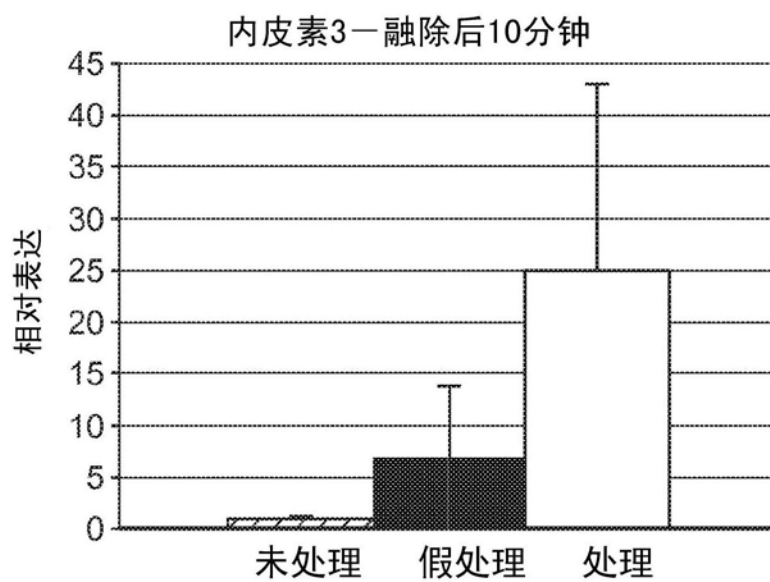


图43

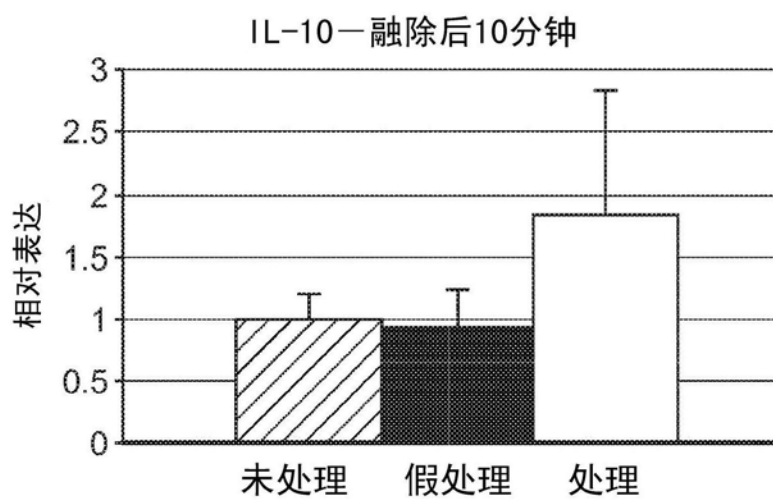


图44

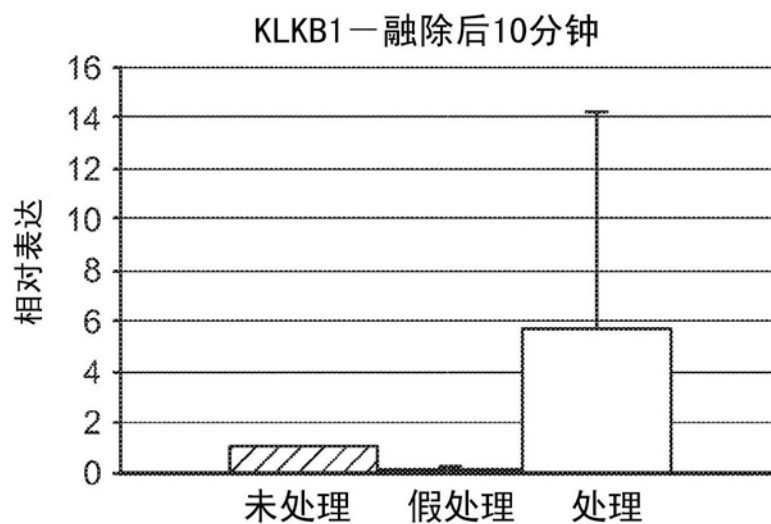


图45

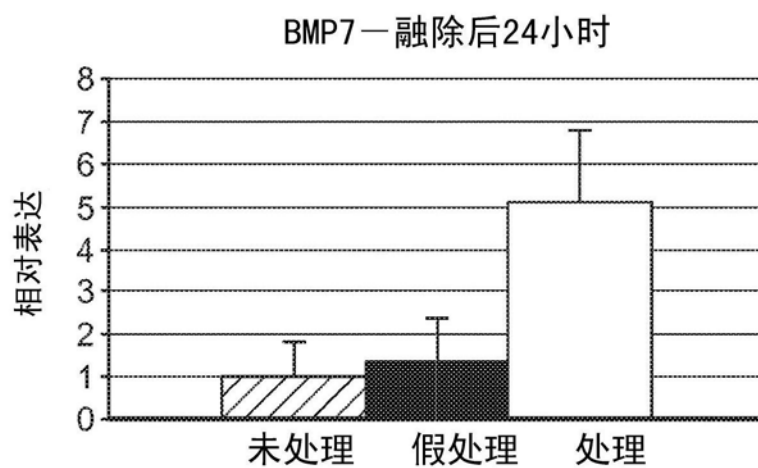


图46

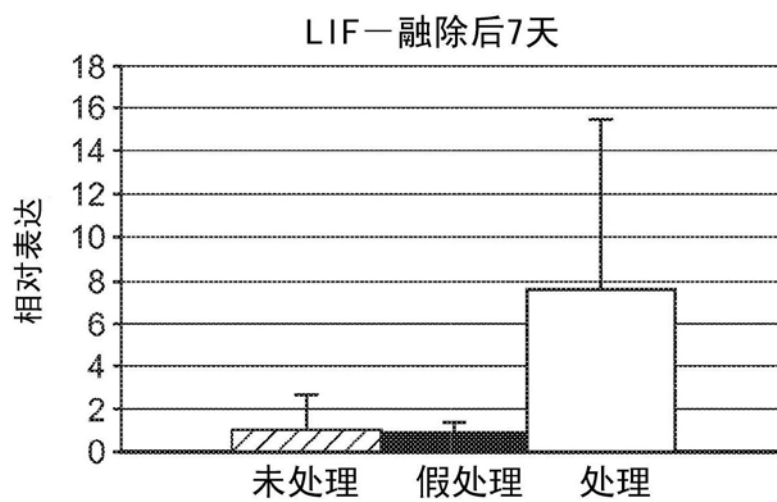


图47

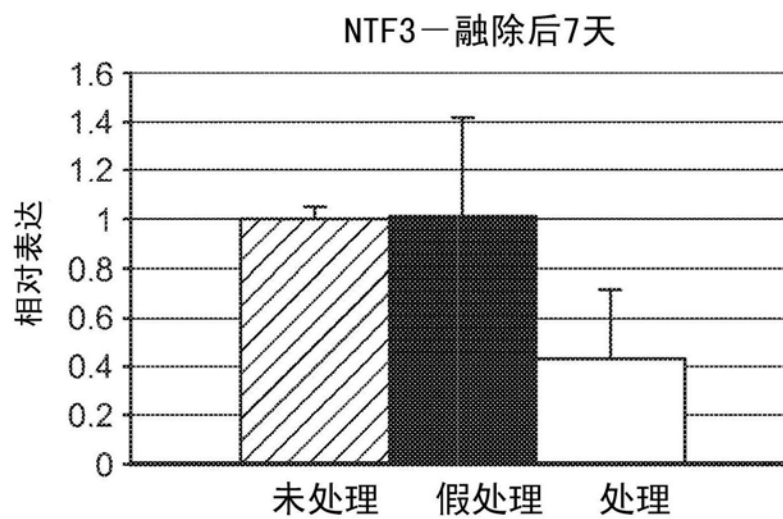


图48

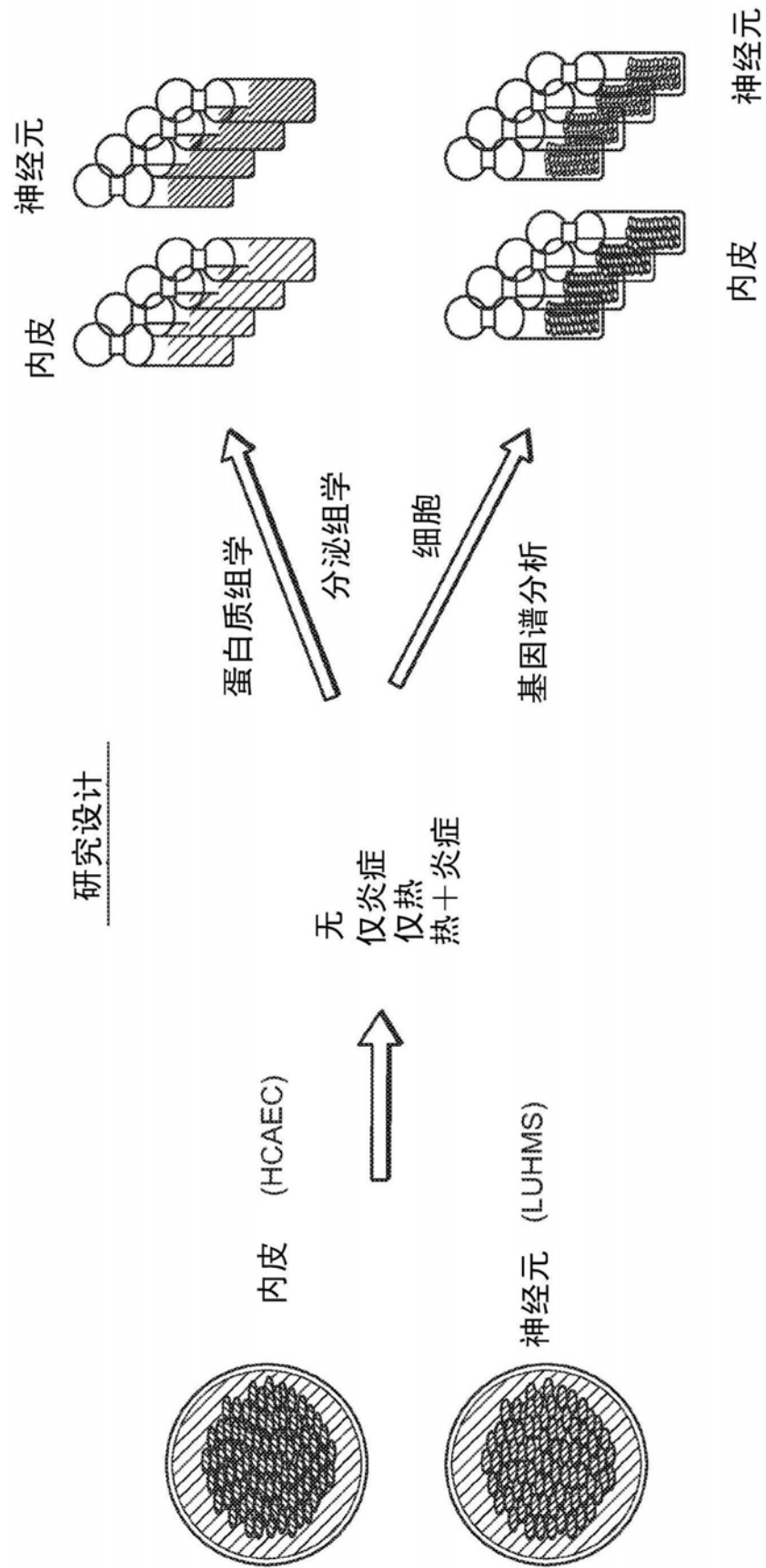


图49

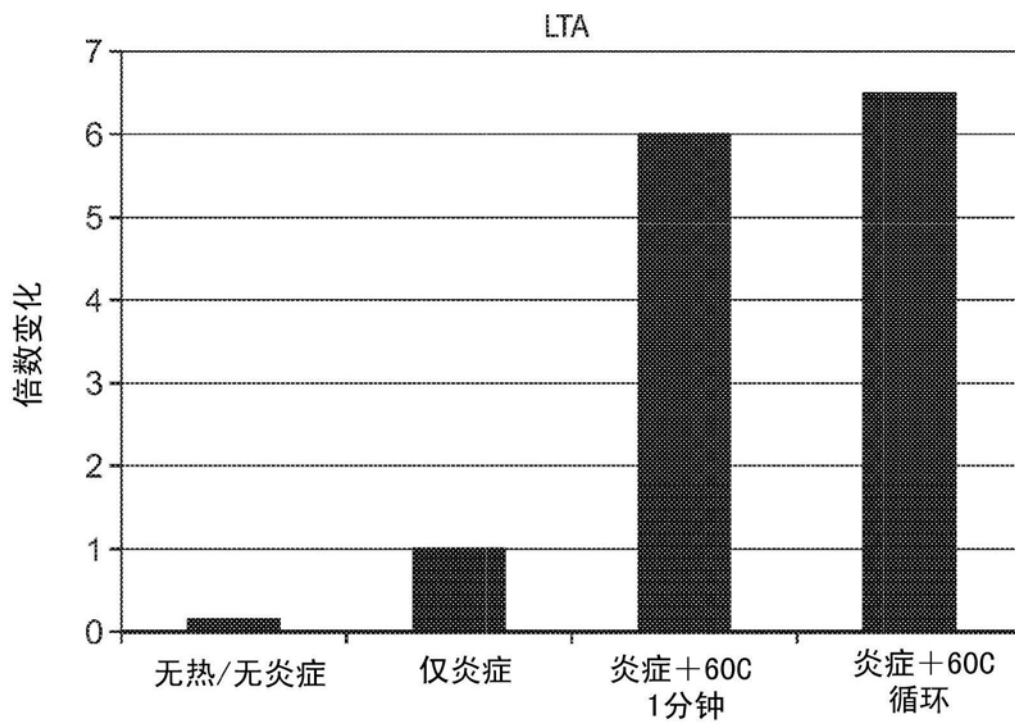


图50

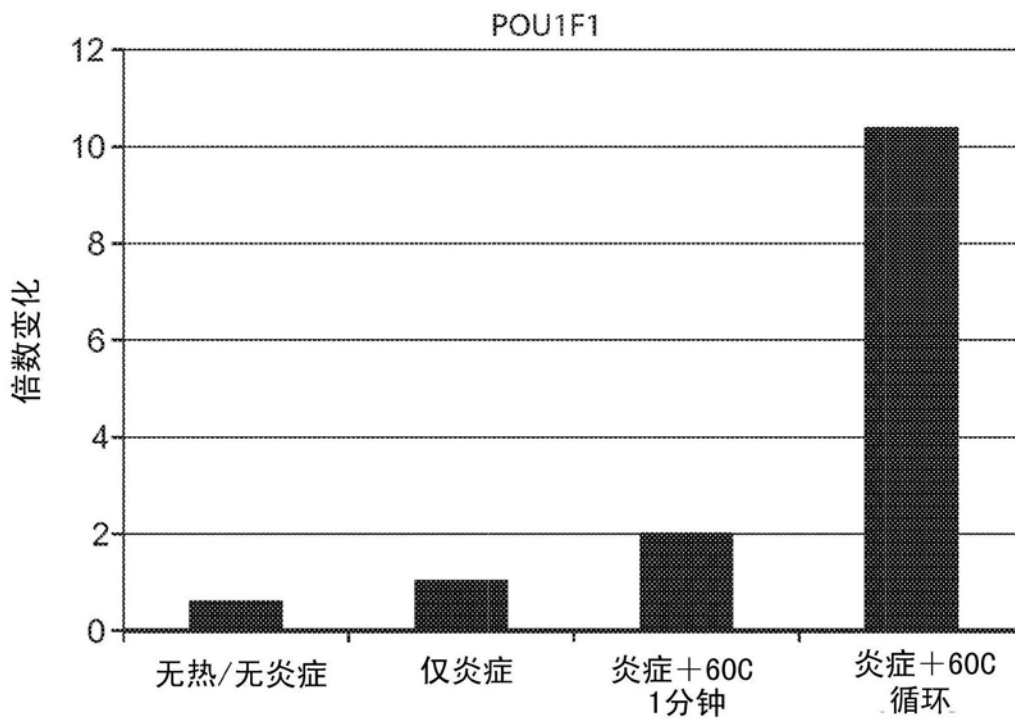


图51

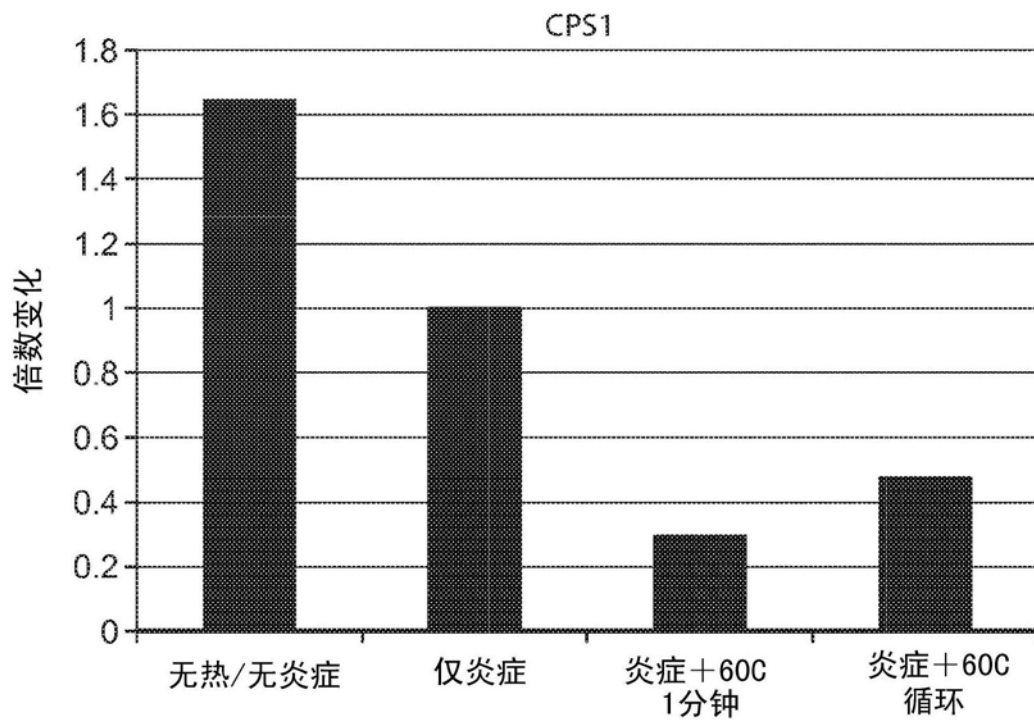


图52

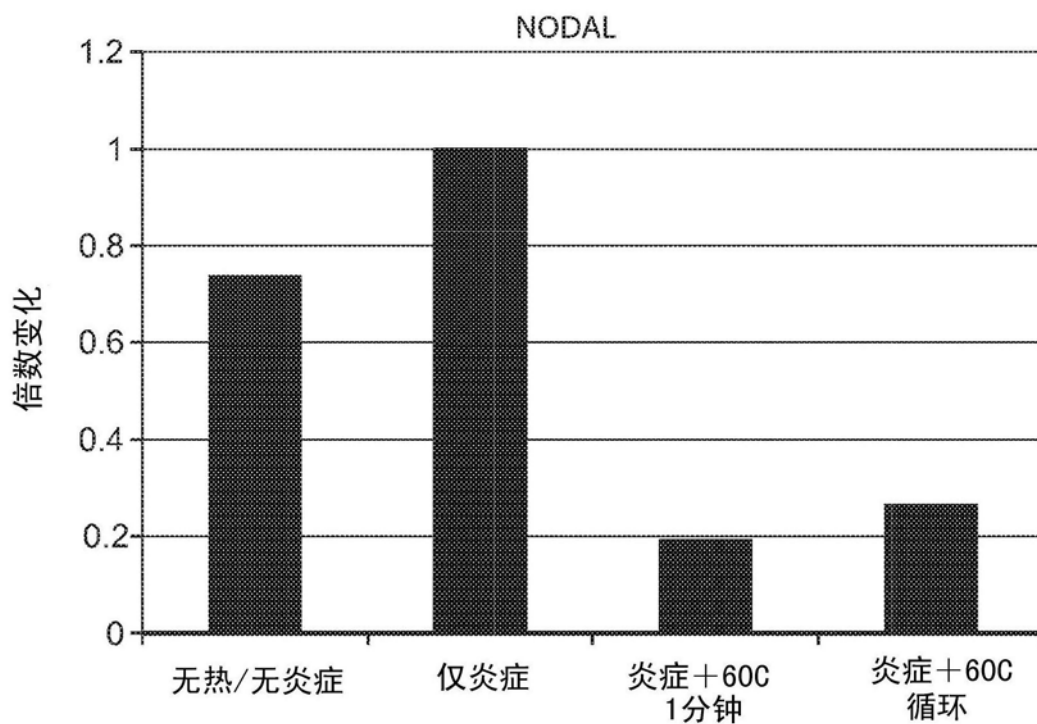


图53

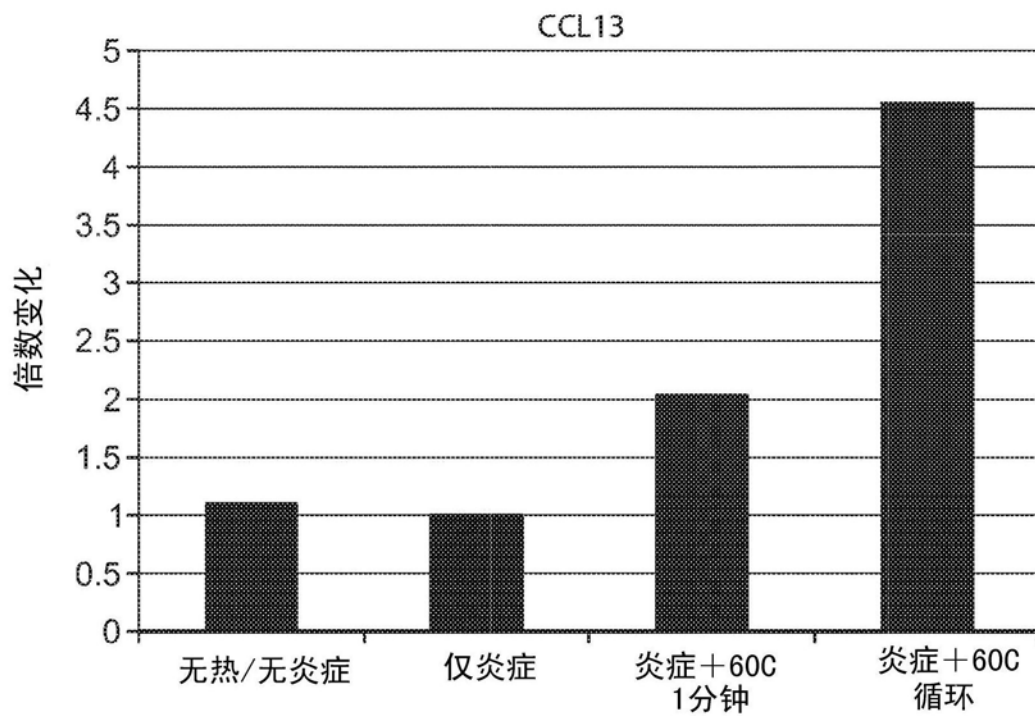


图54

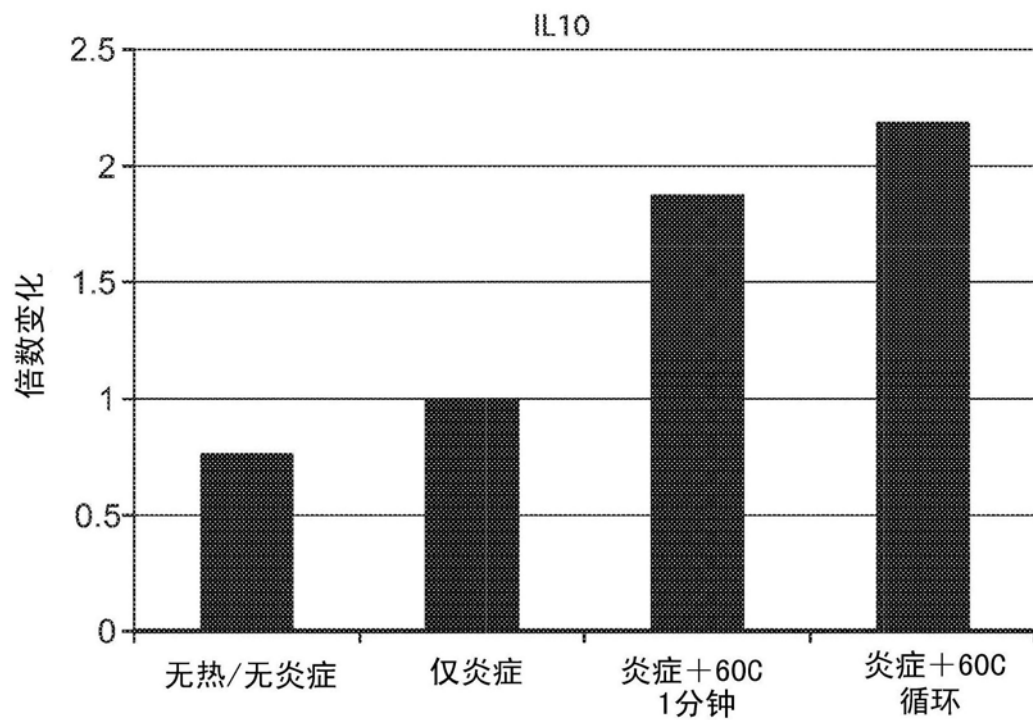


图55

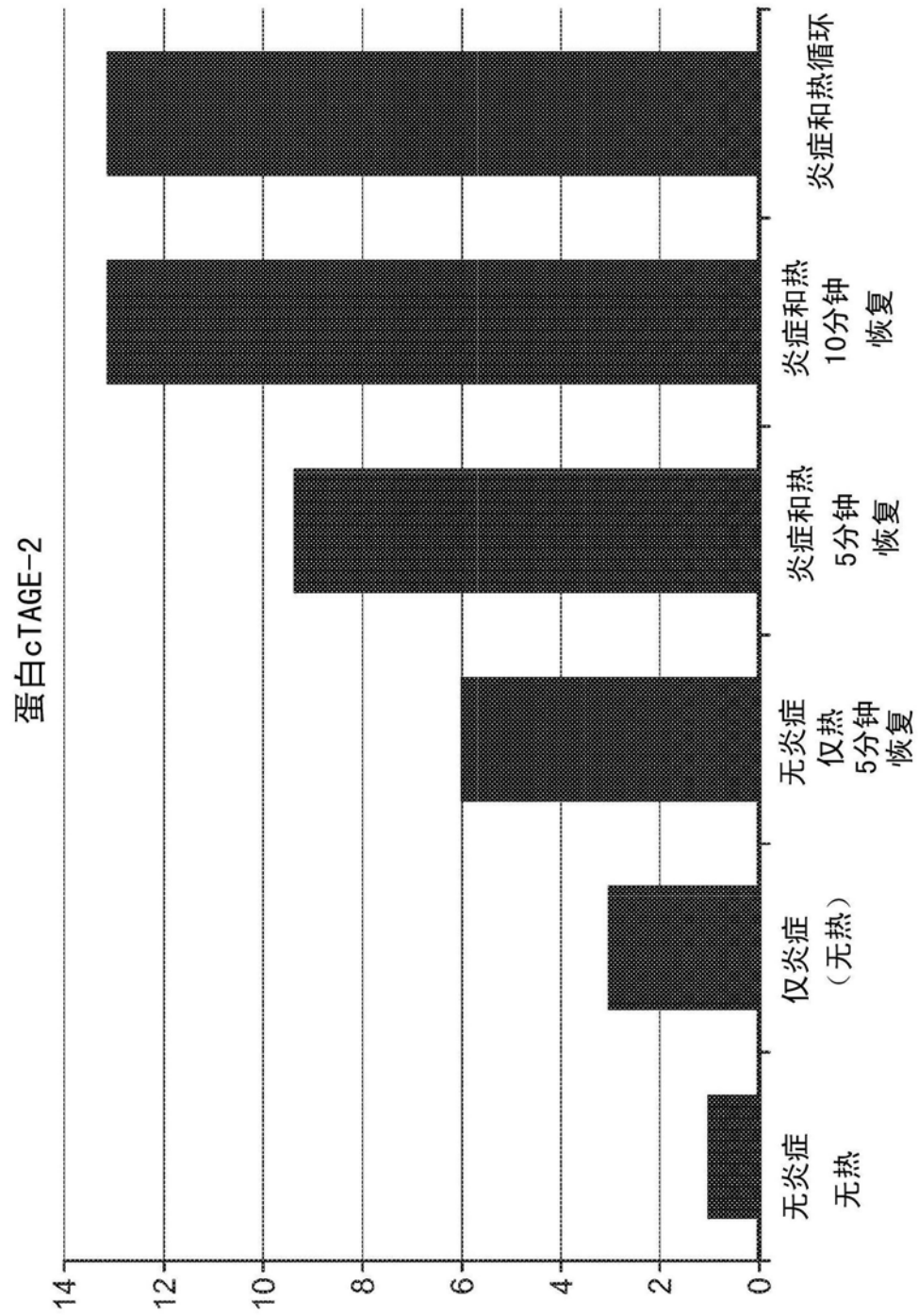


图56

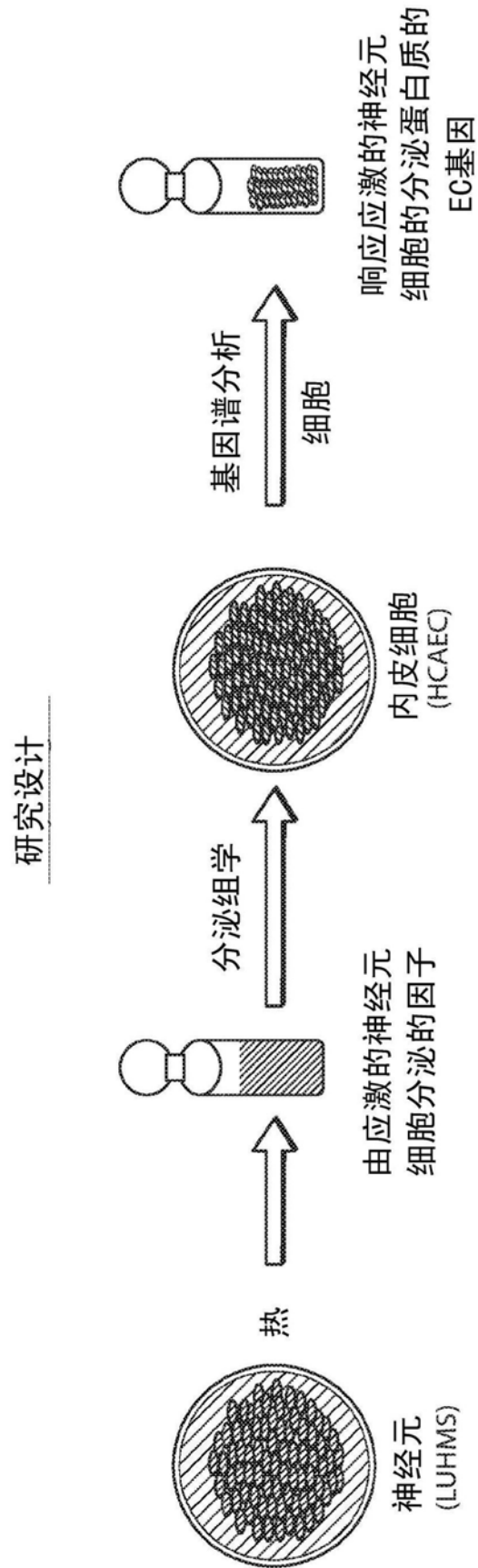


图57

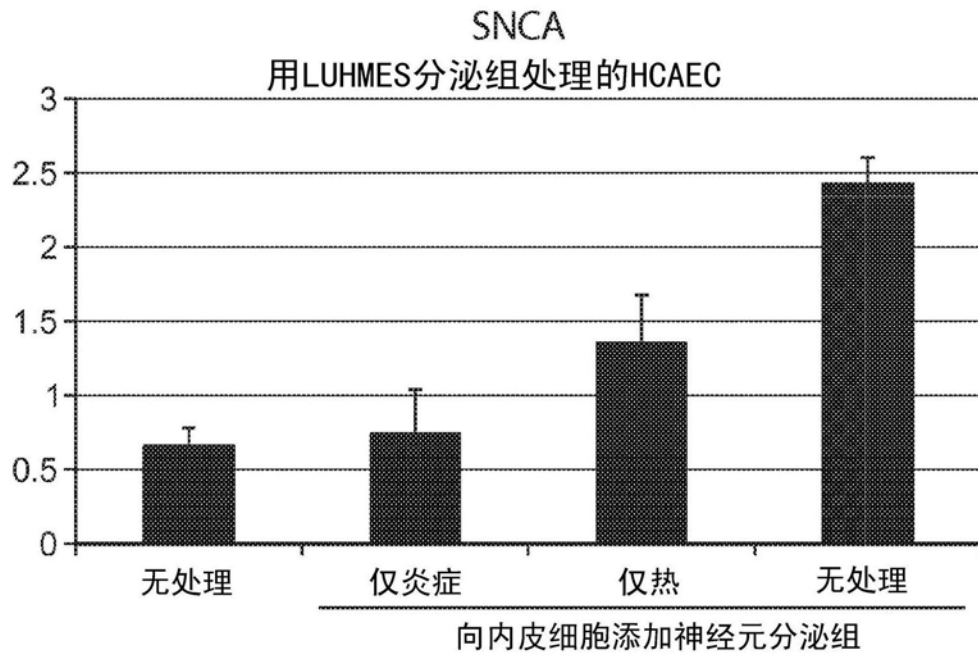


图58A

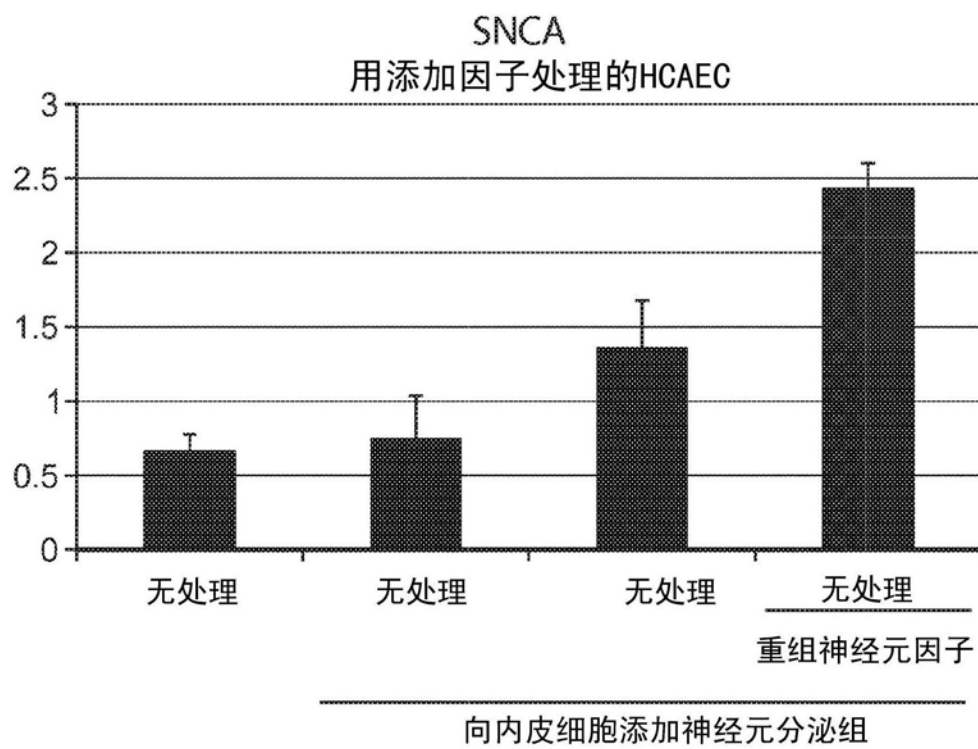


图58B

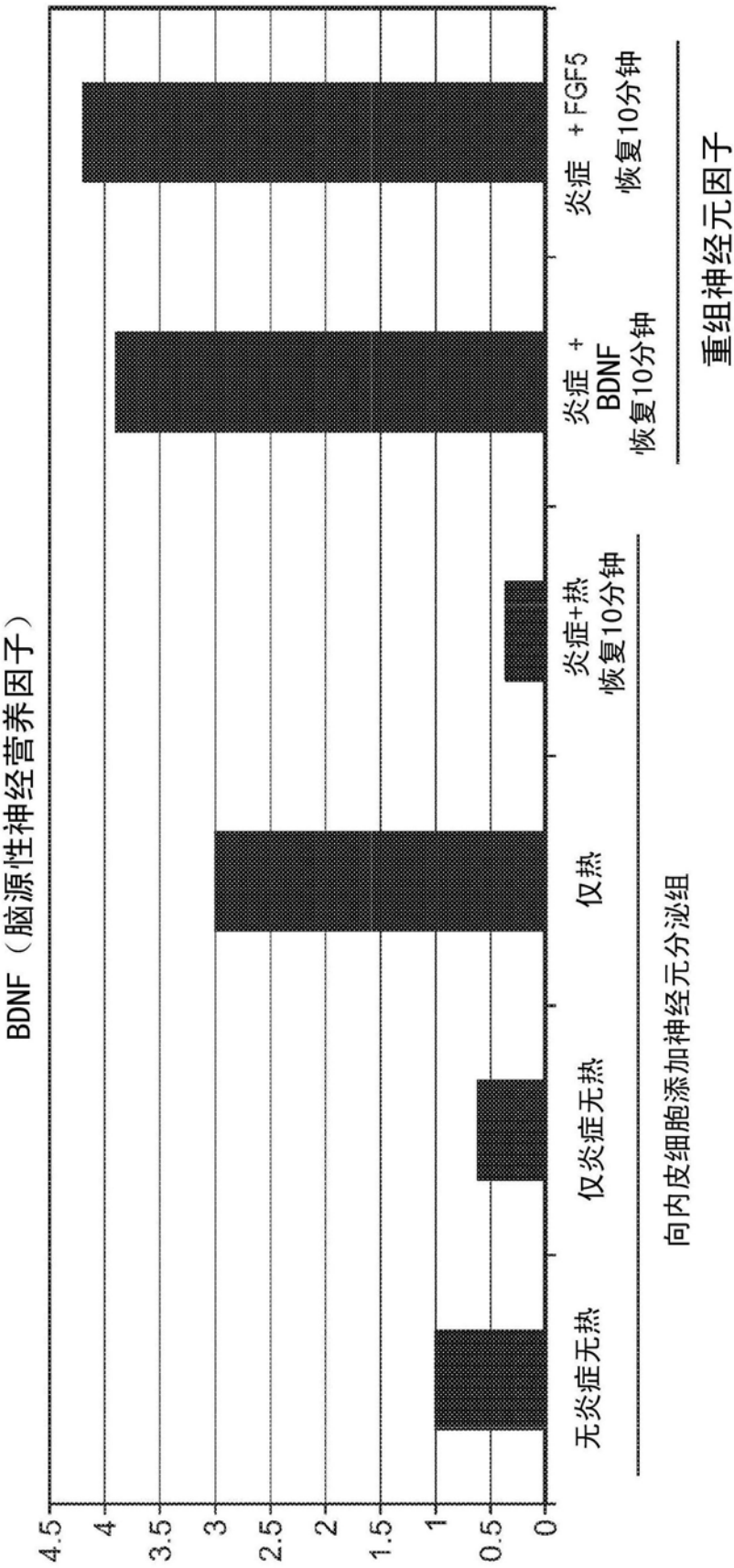


图59

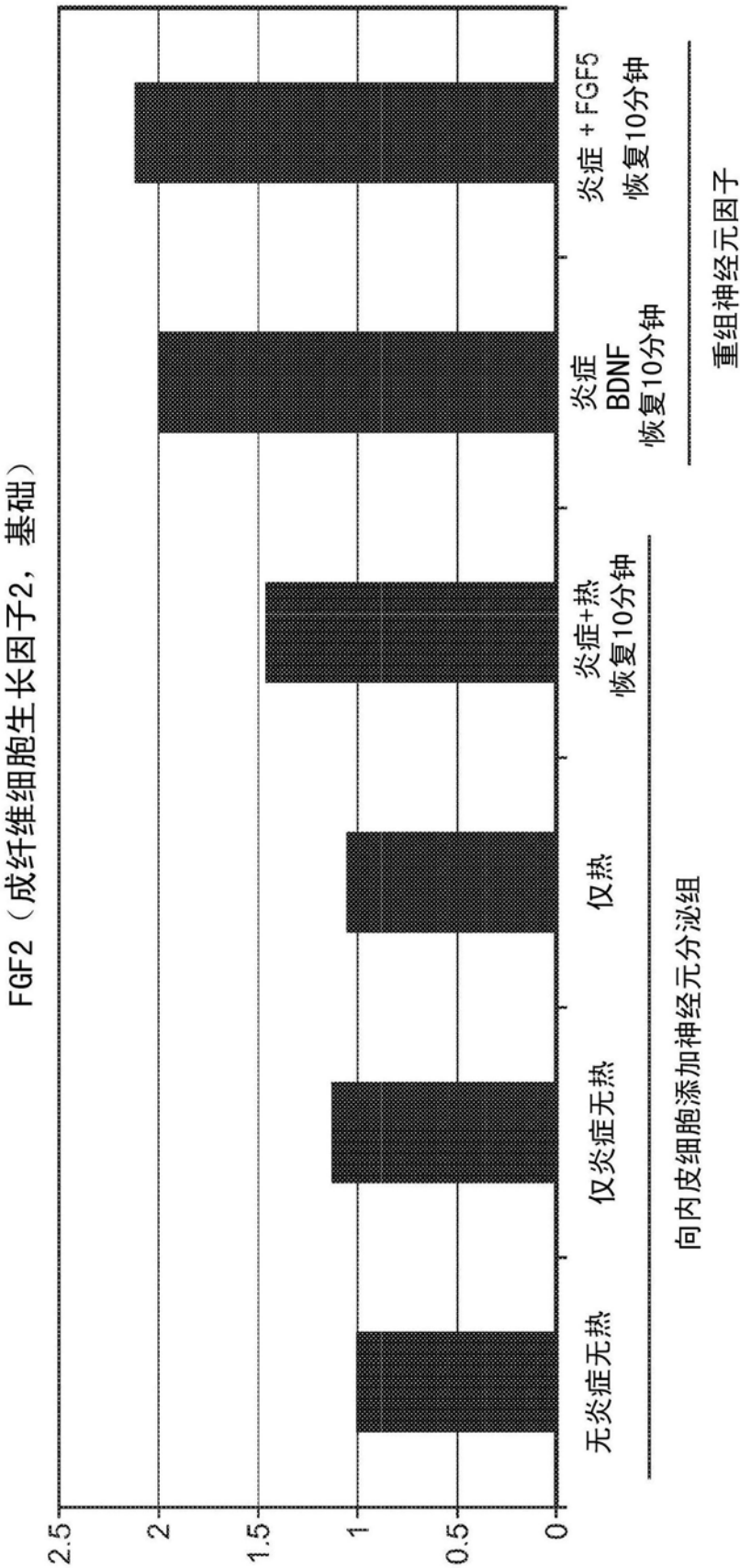


图60

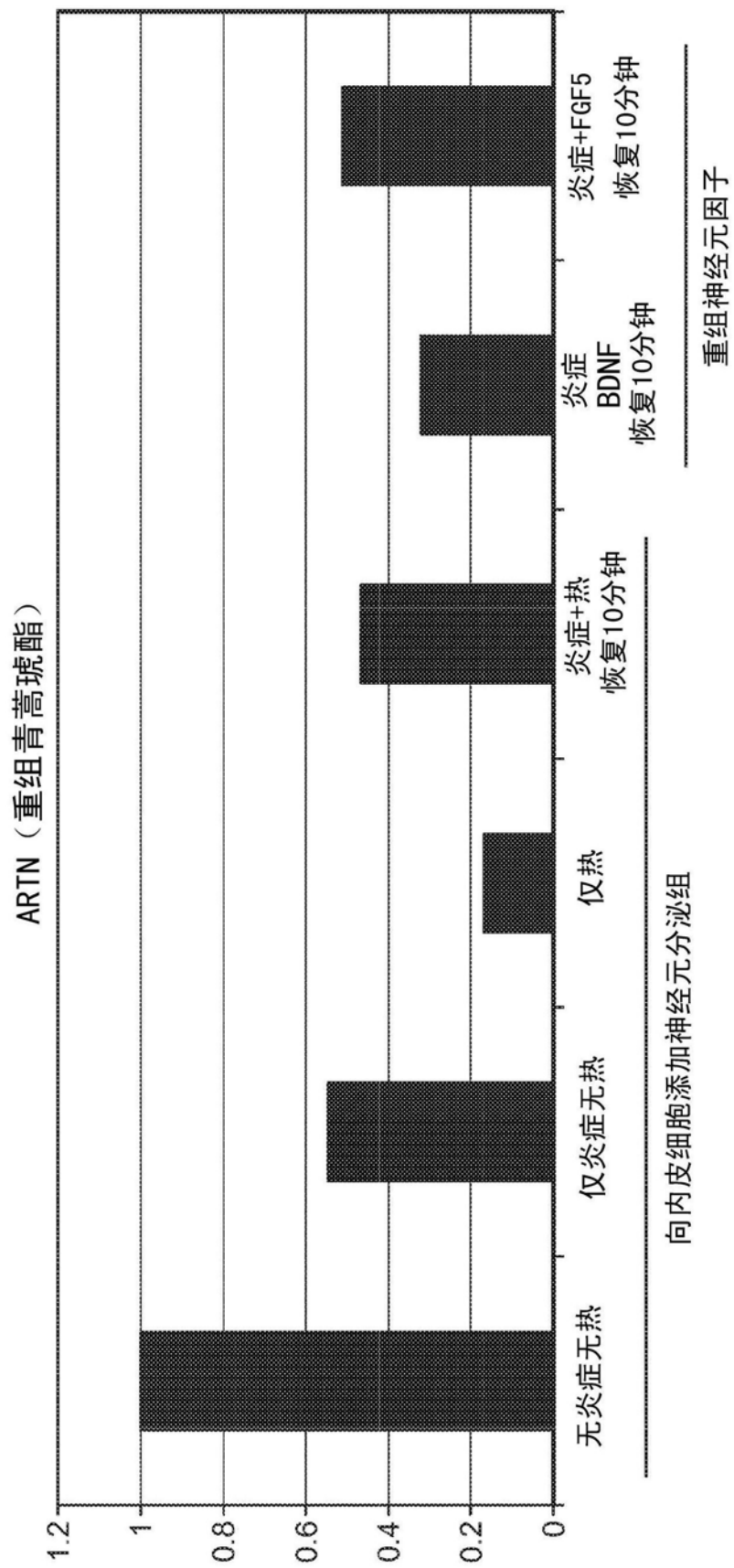


图61

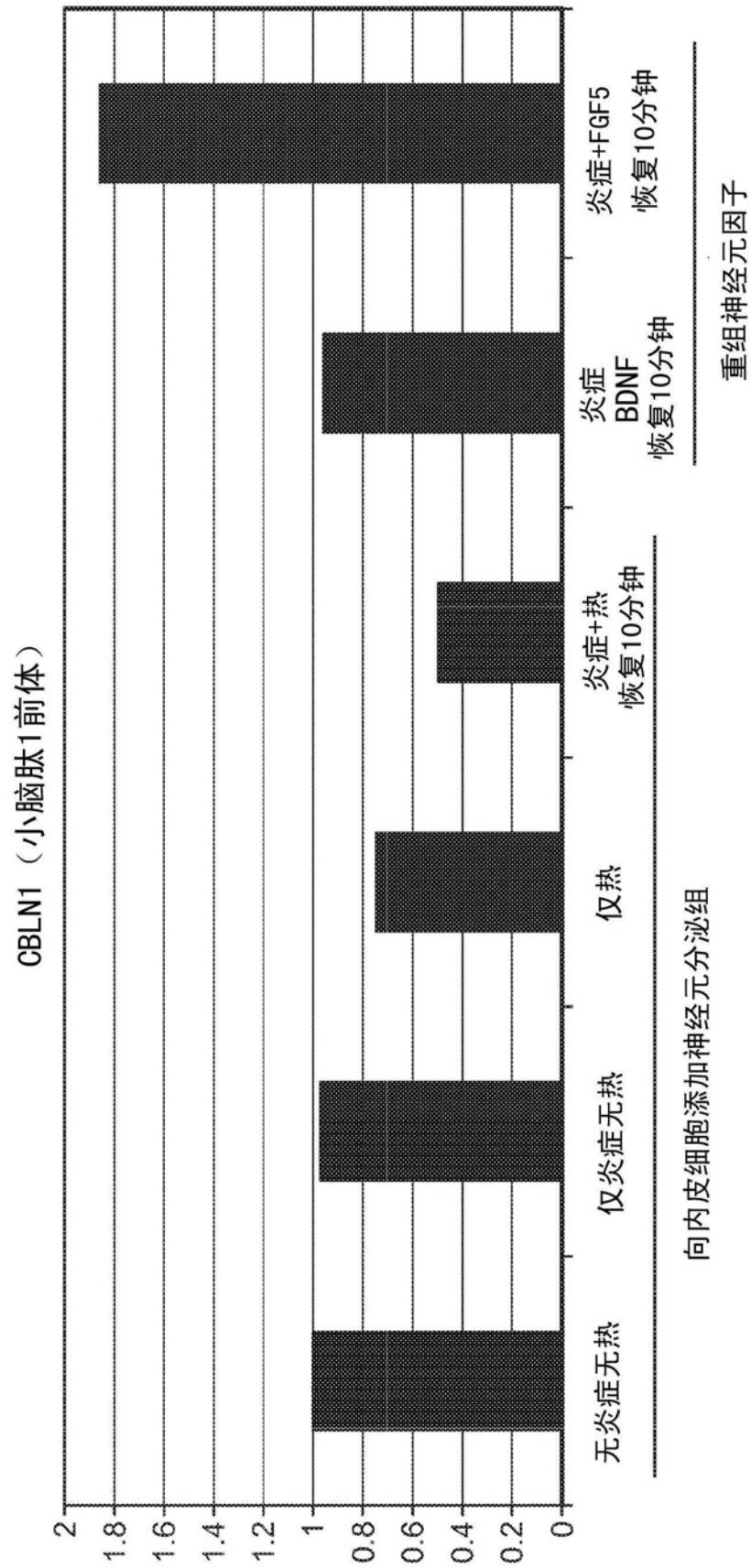


图62

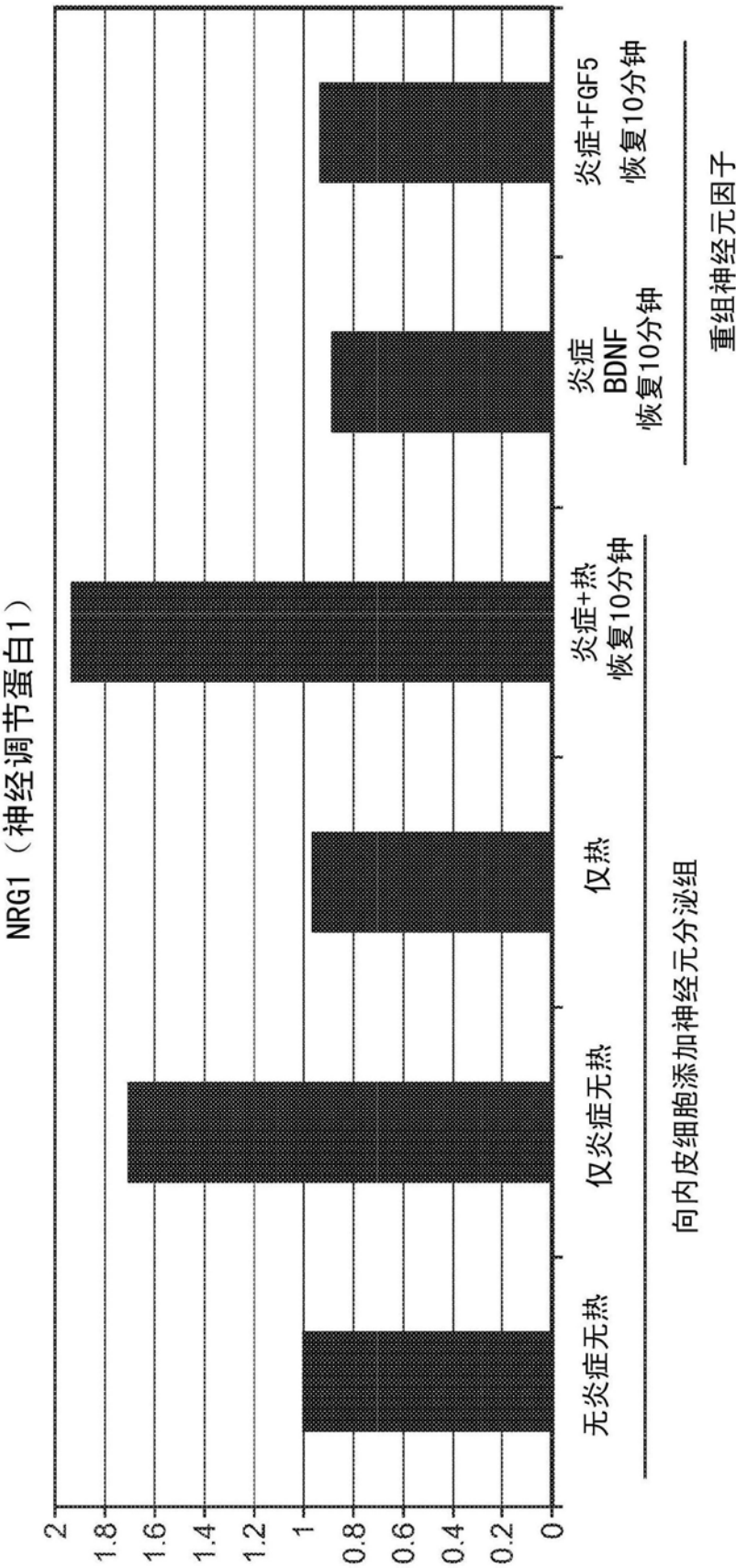


图63

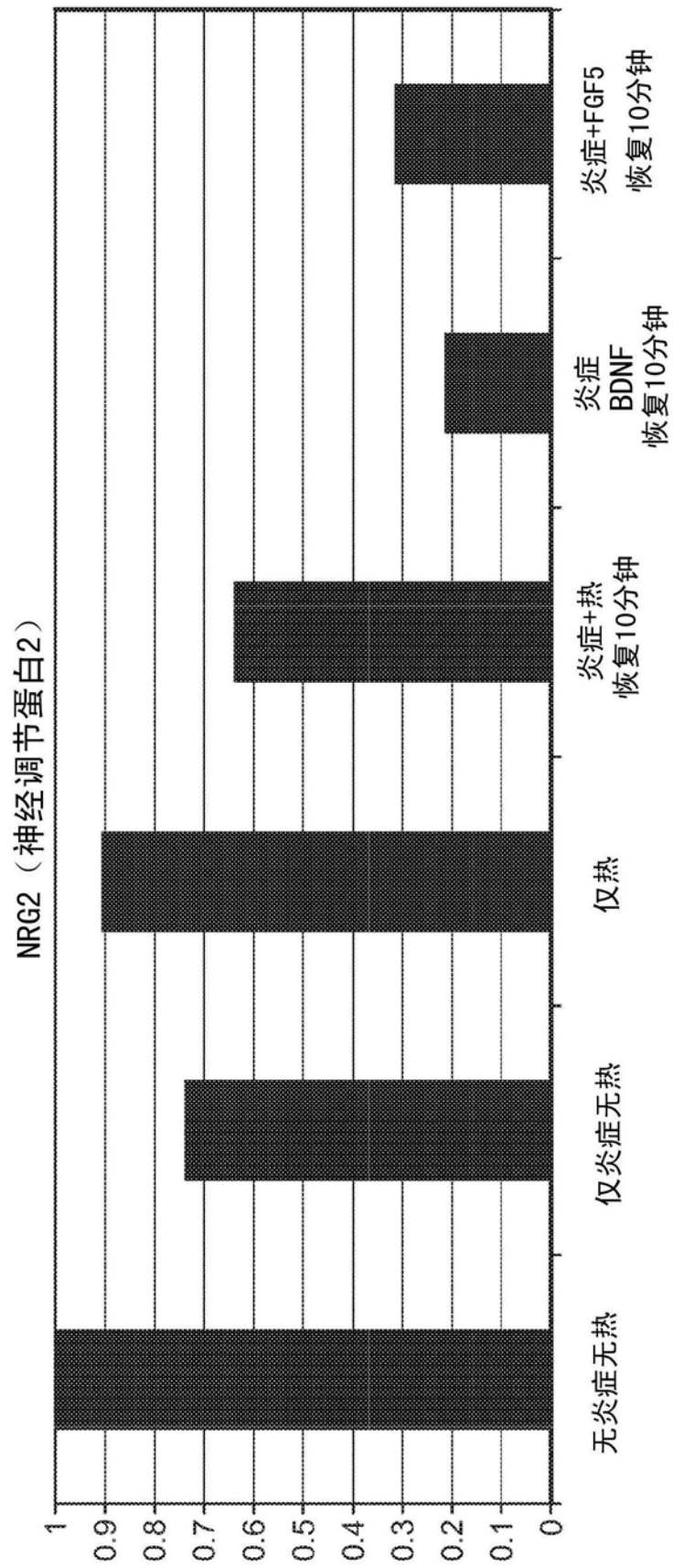


图64

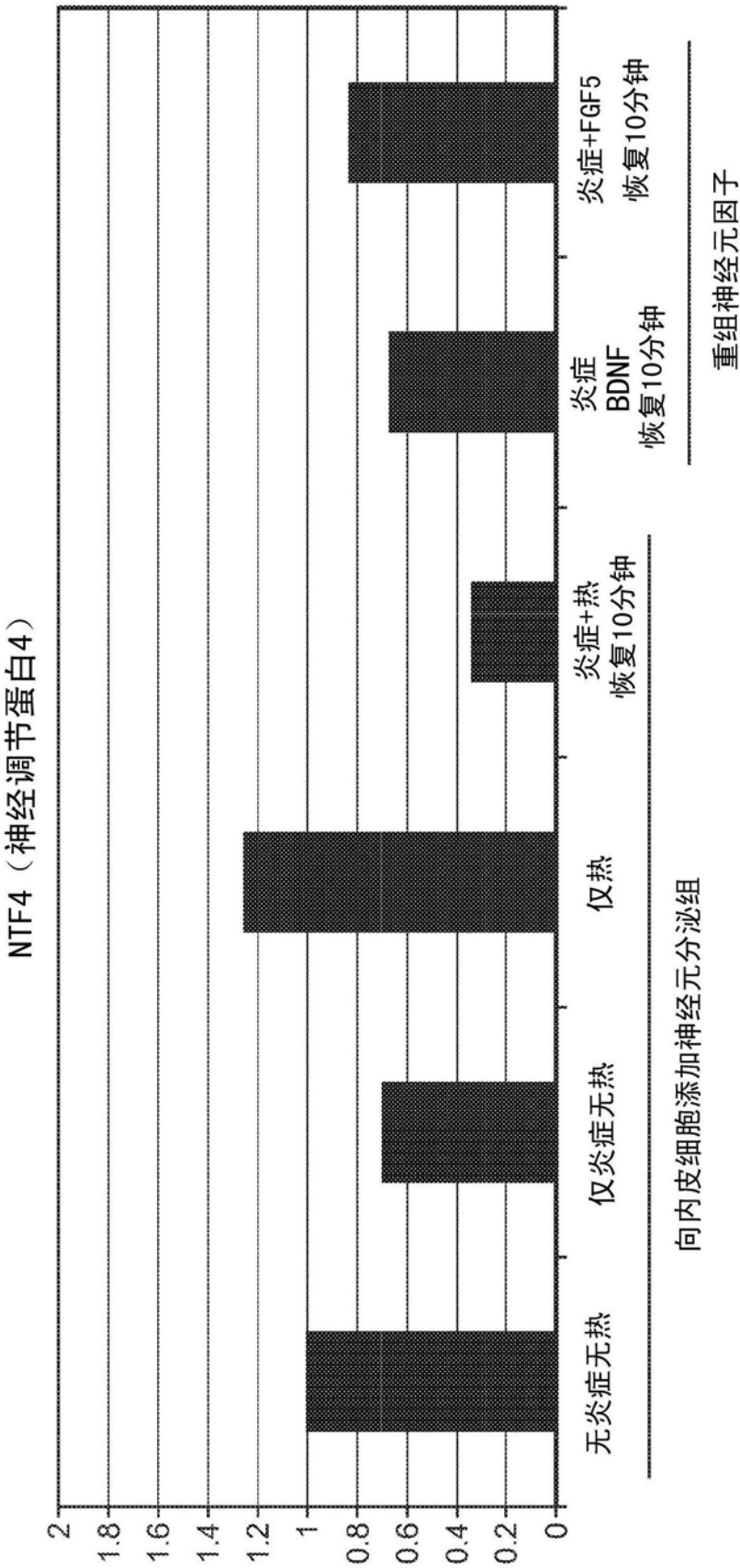


图65

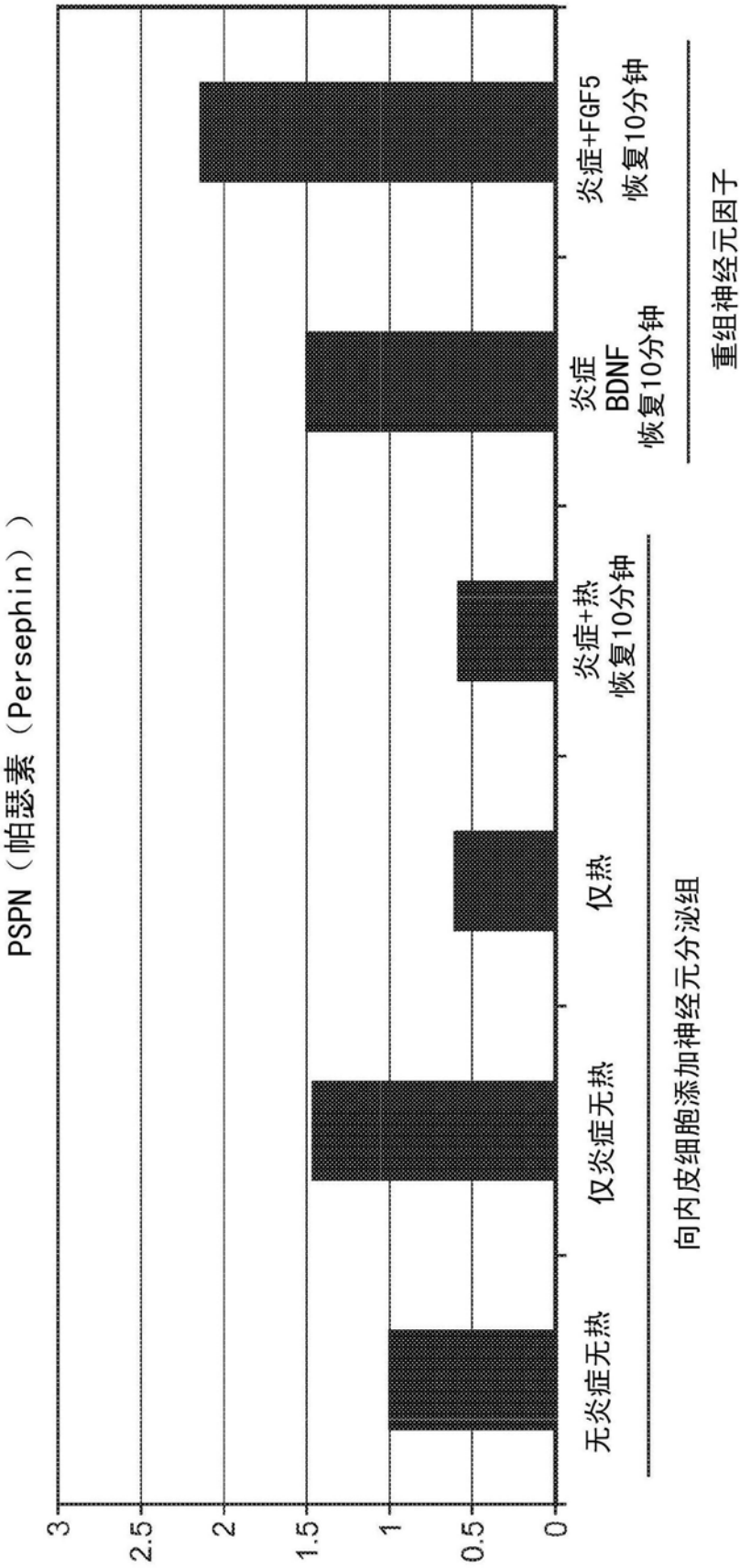


图66

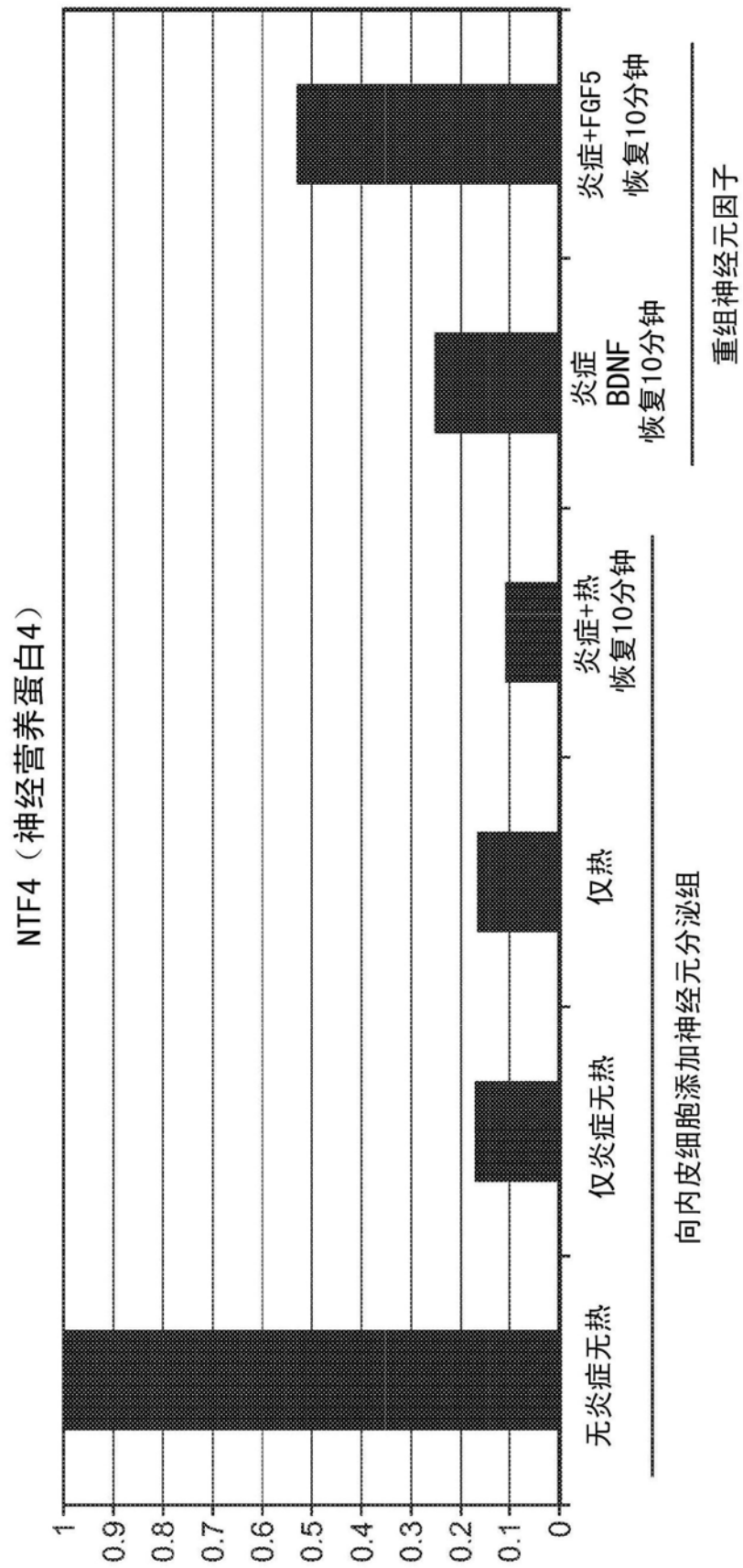


图67

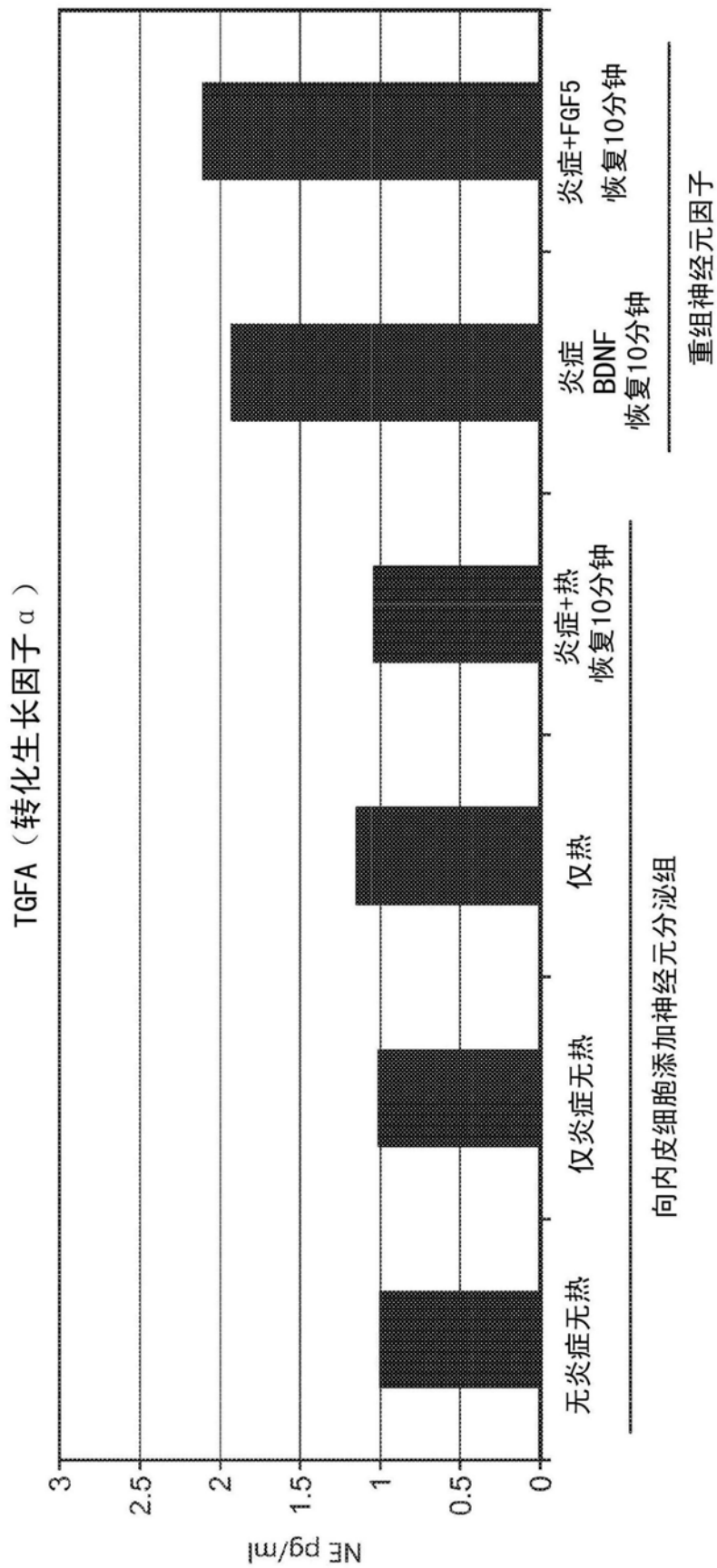


图68

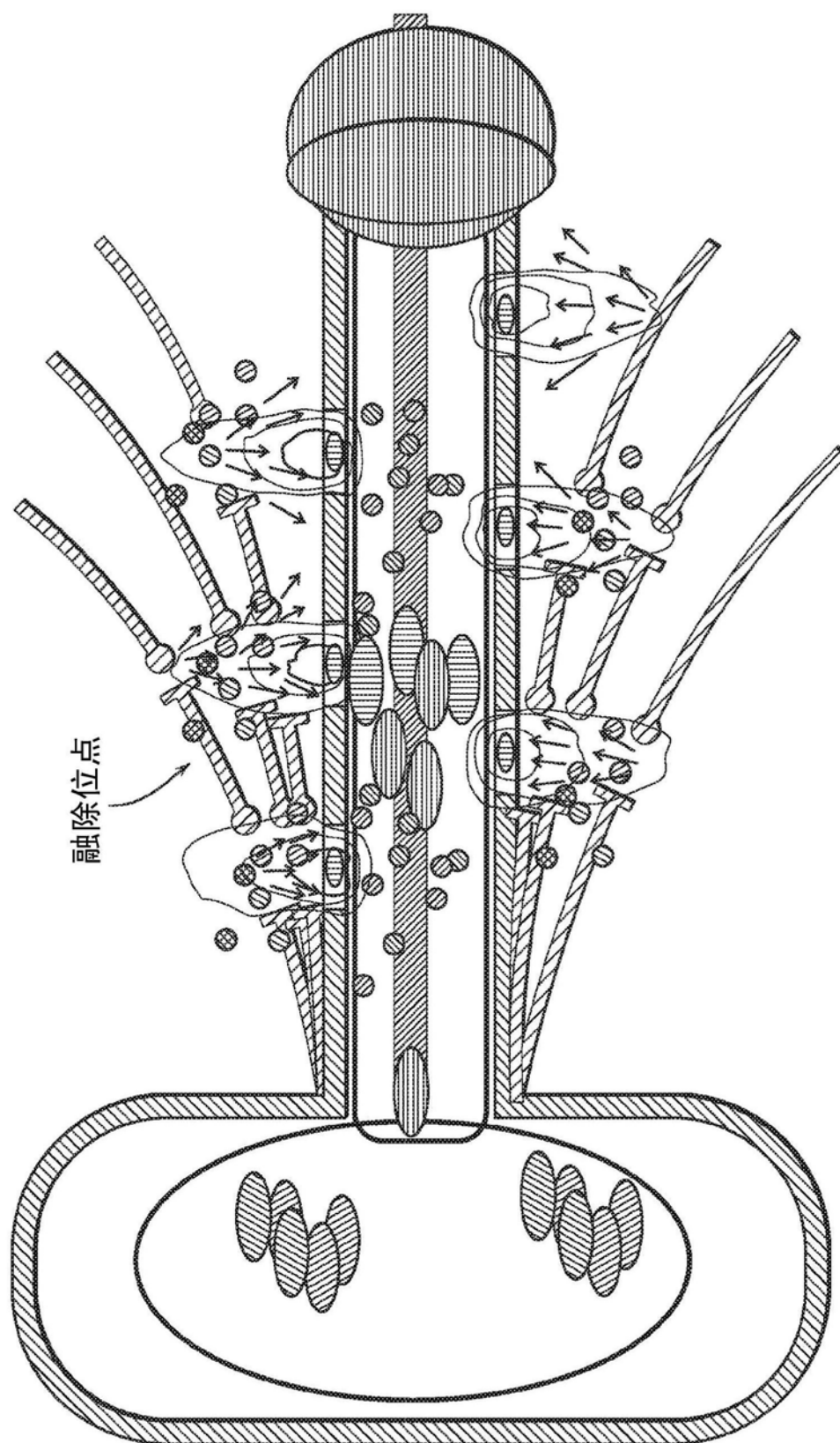


图69

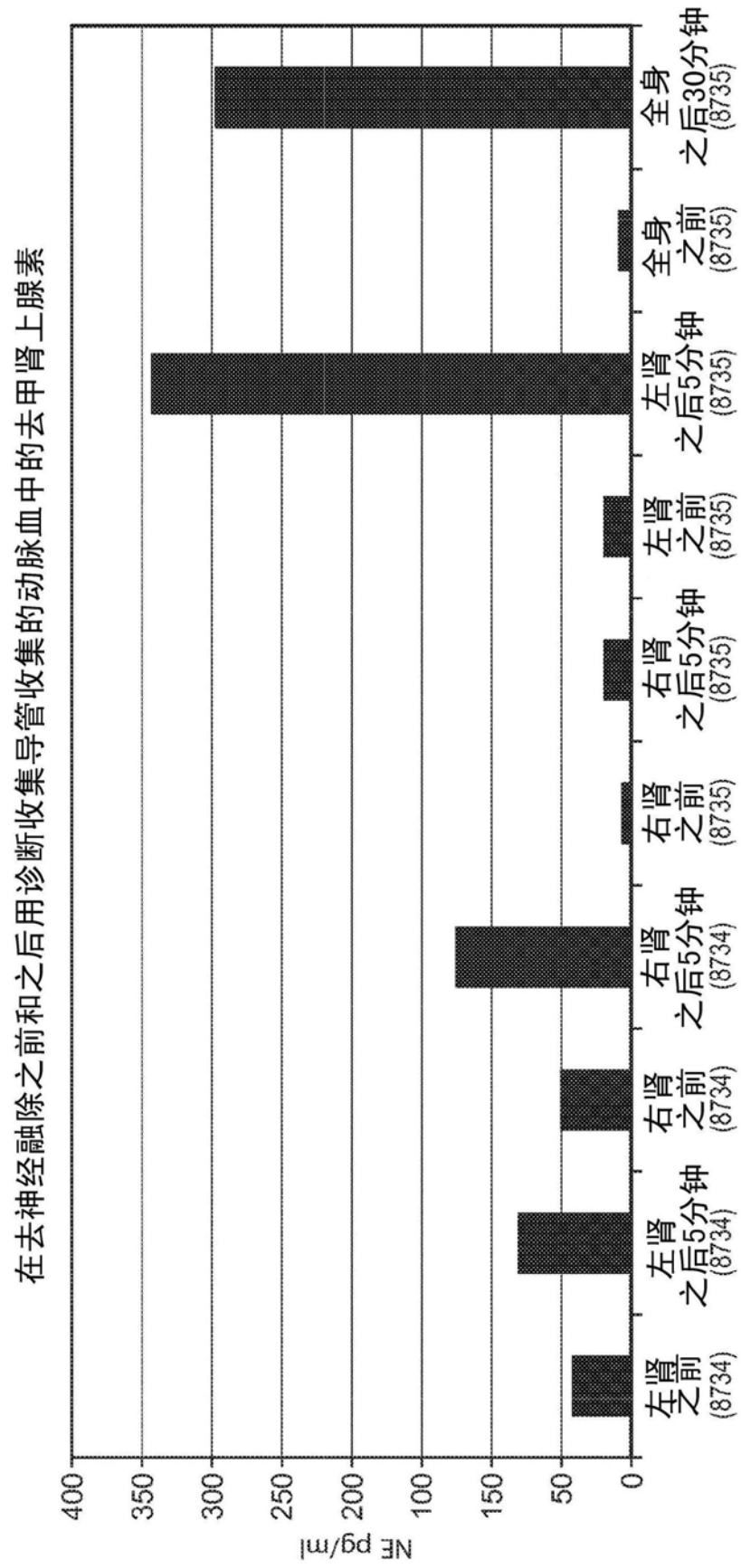


图70A

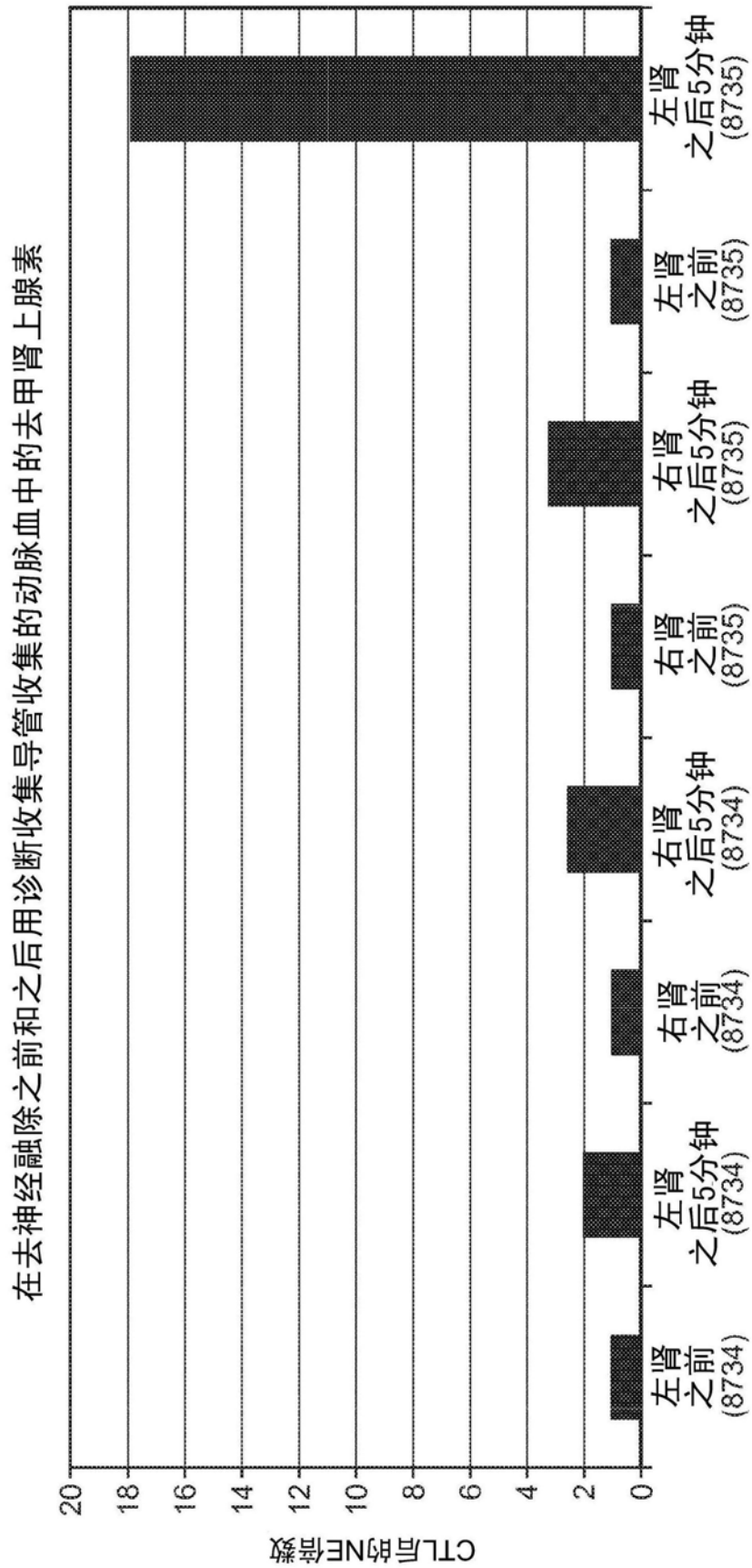


图70B

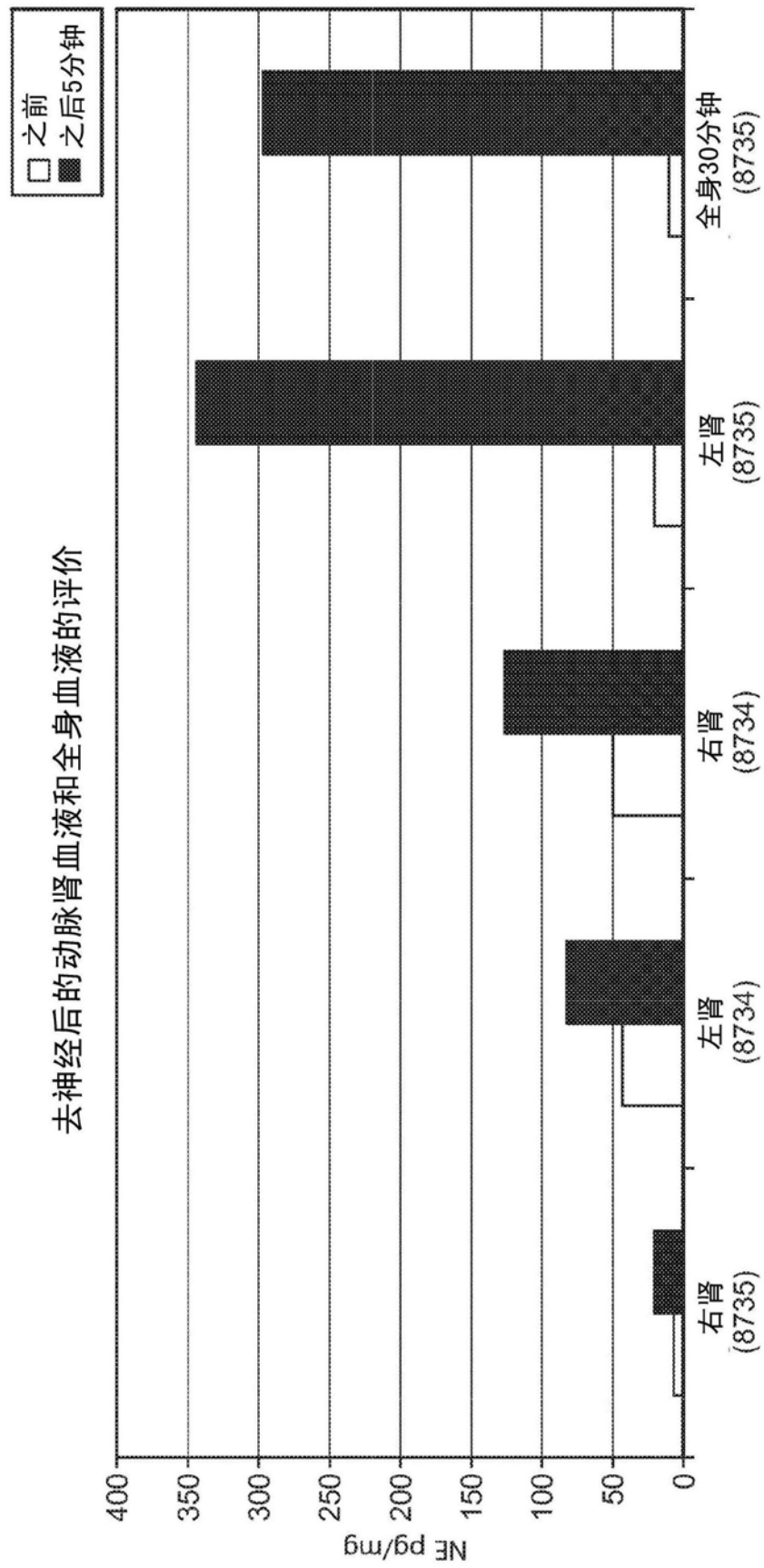


图71

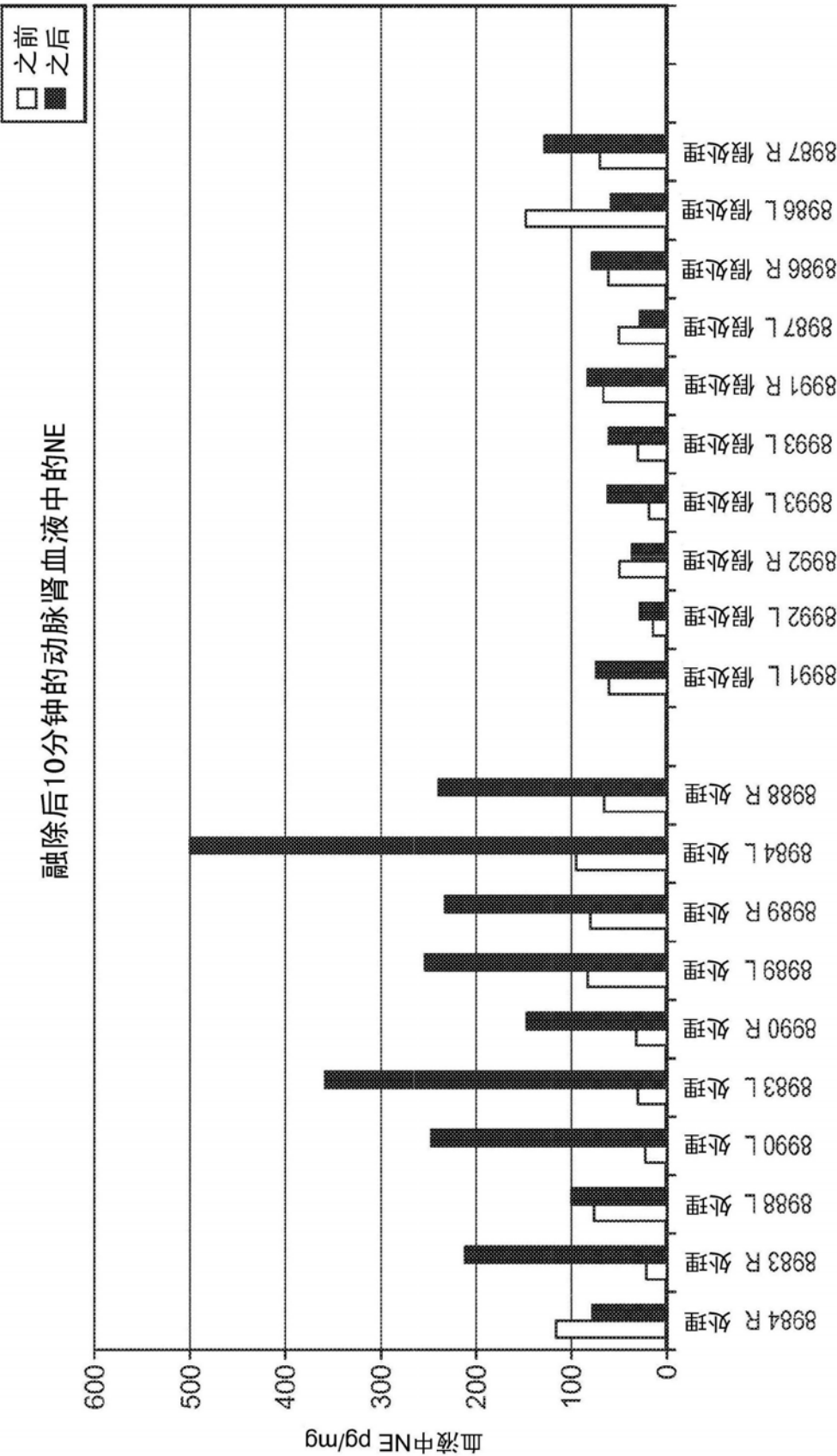


图72

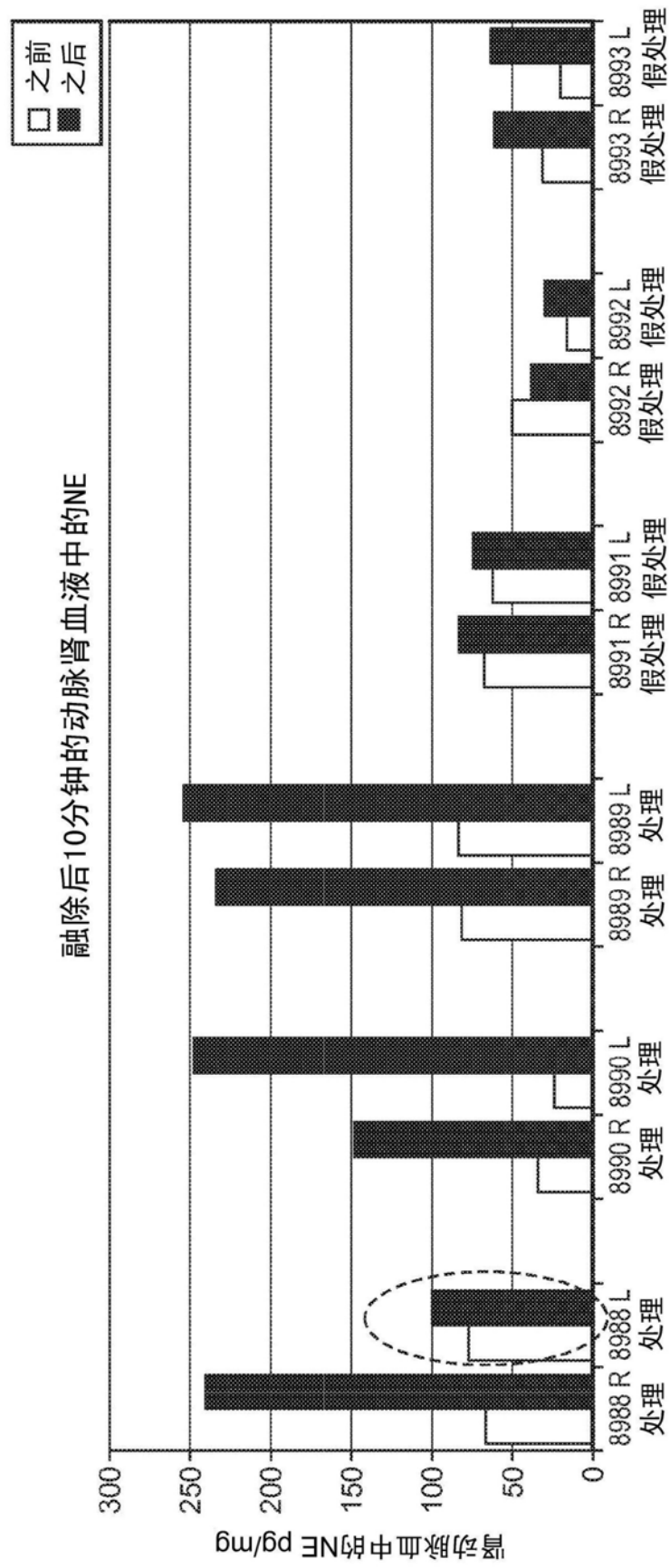


图73A

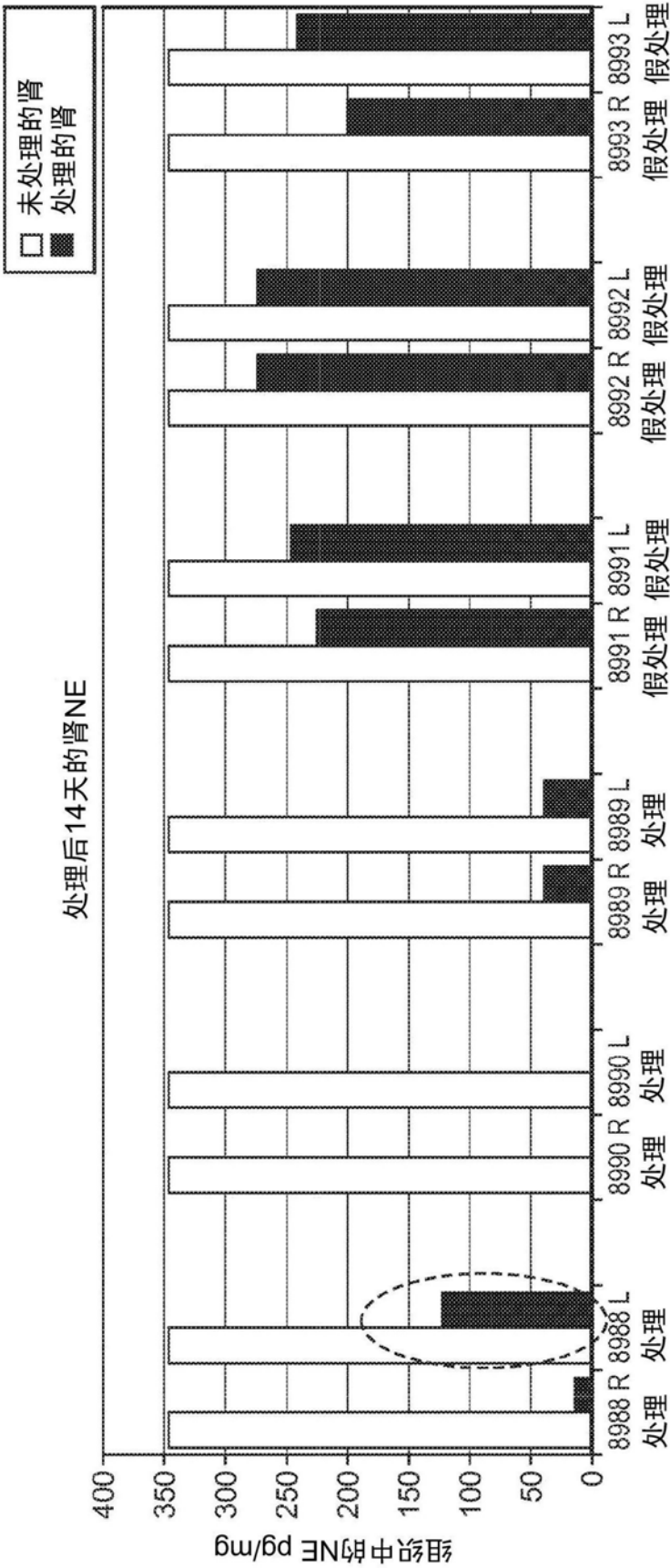


图73B

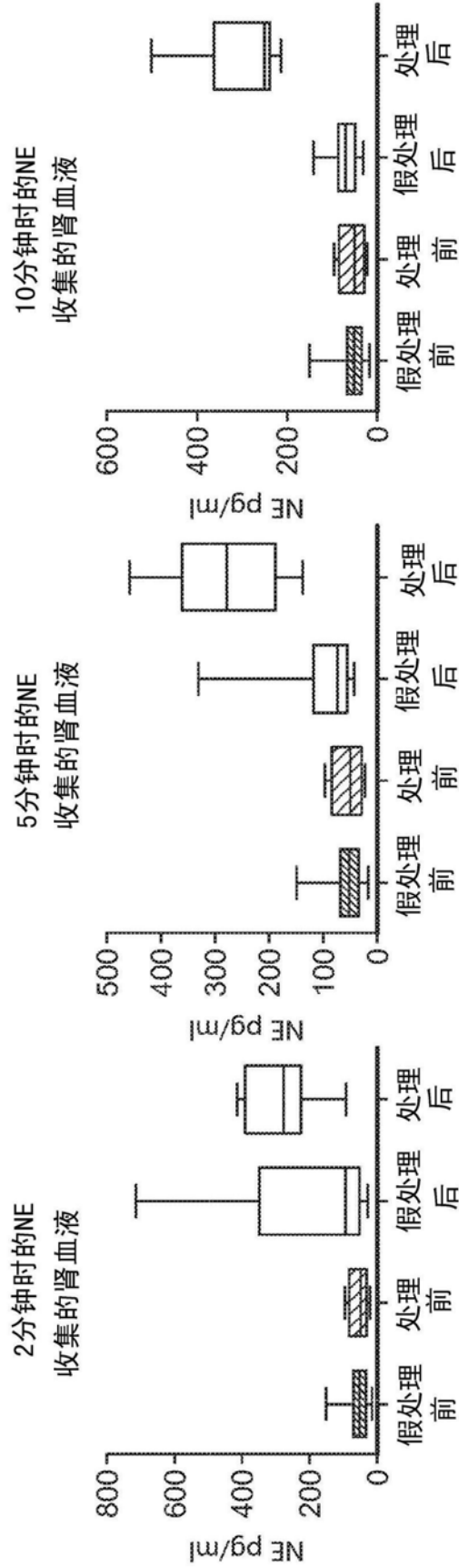


图74

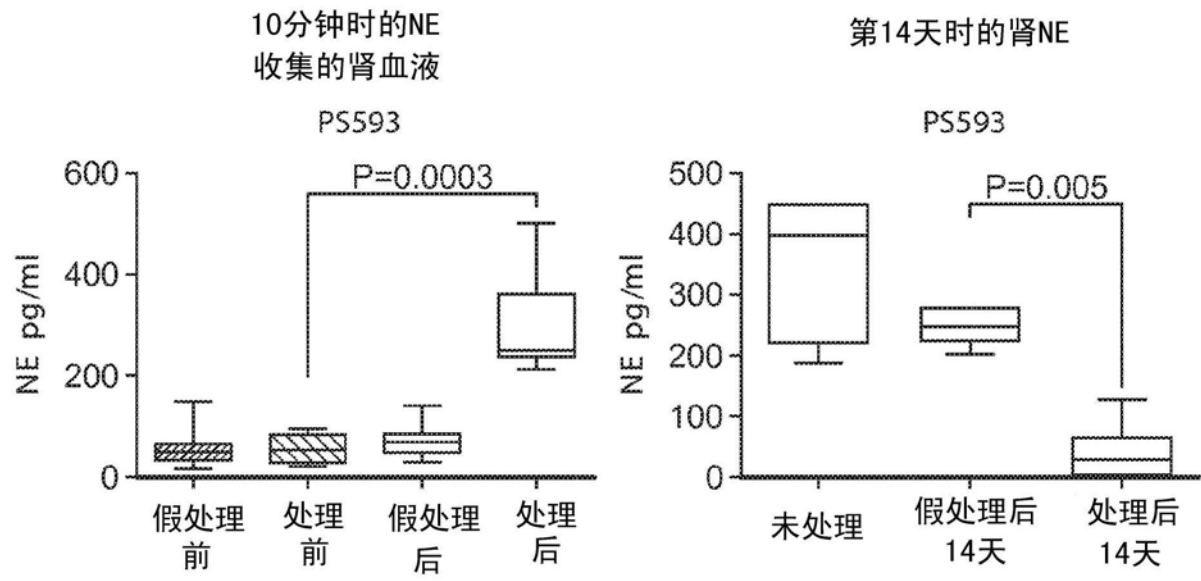


图75

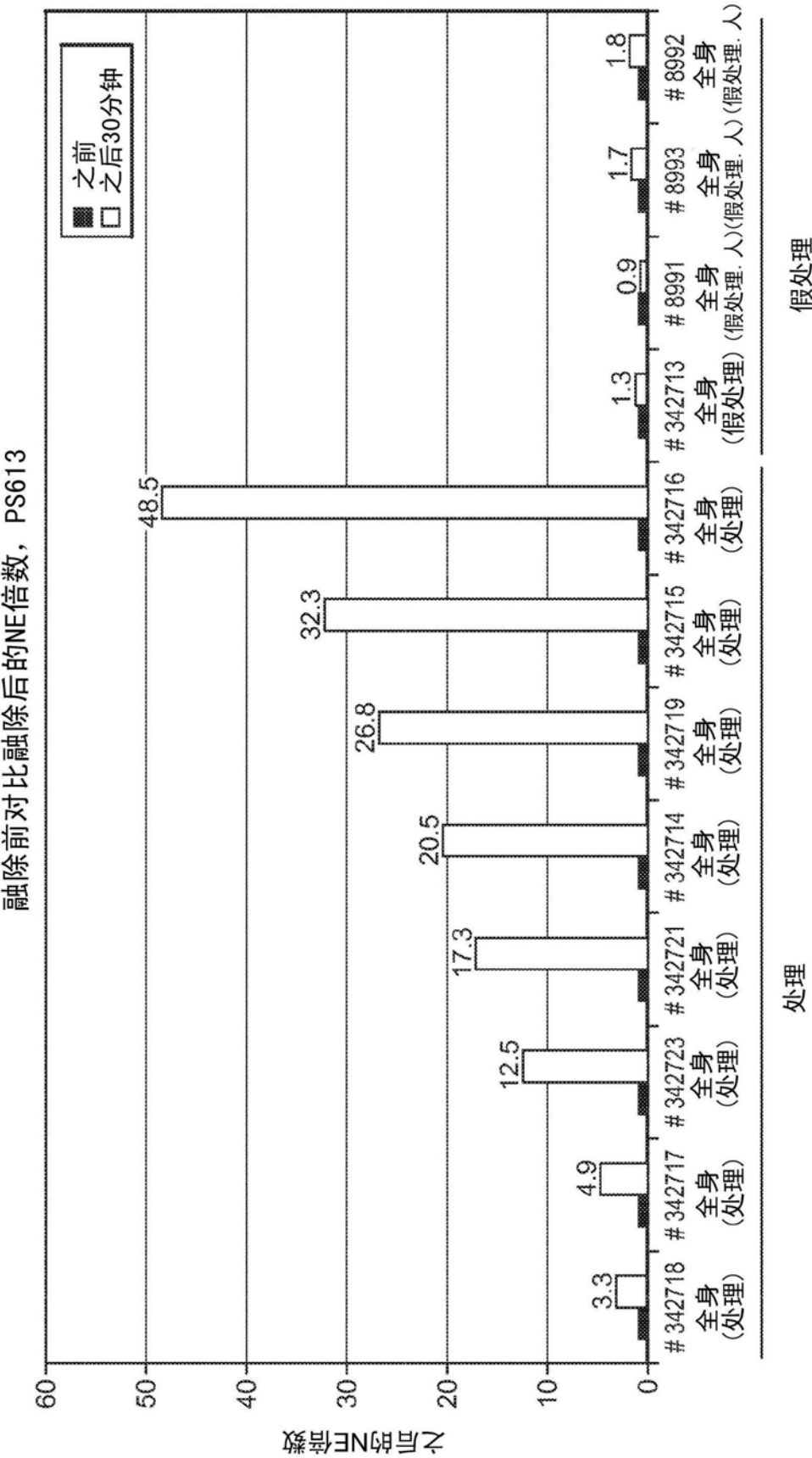


图76

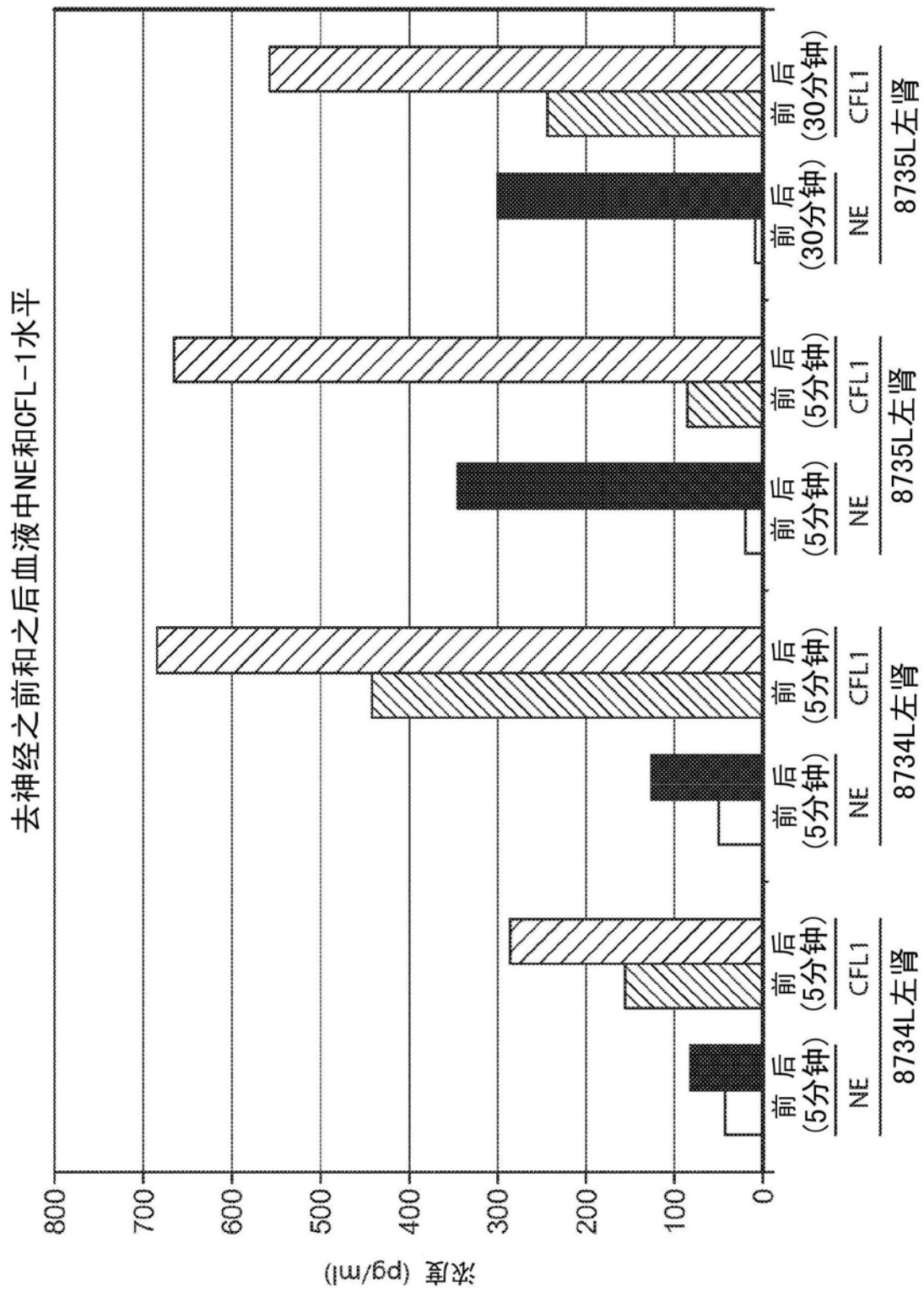


图77

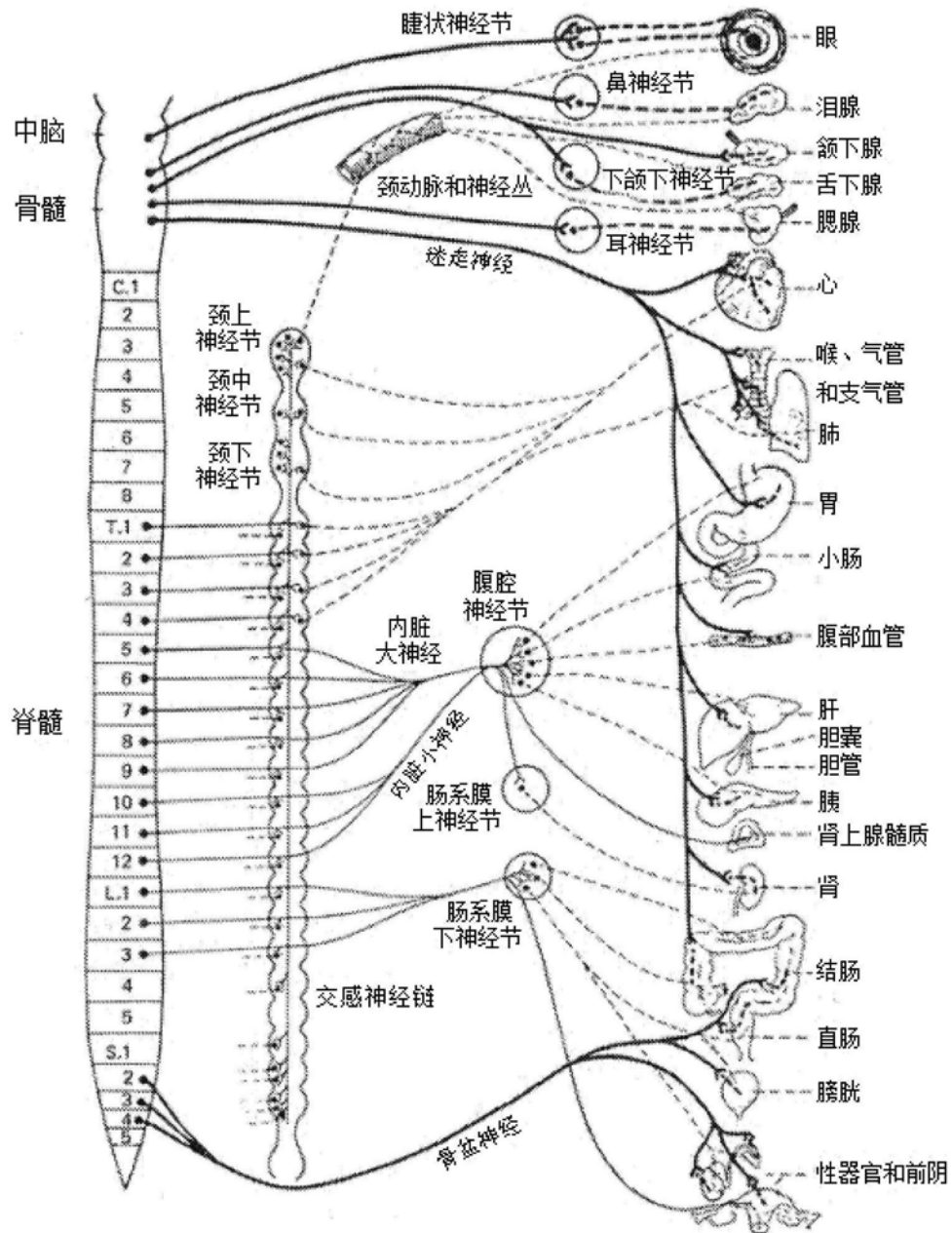


图78

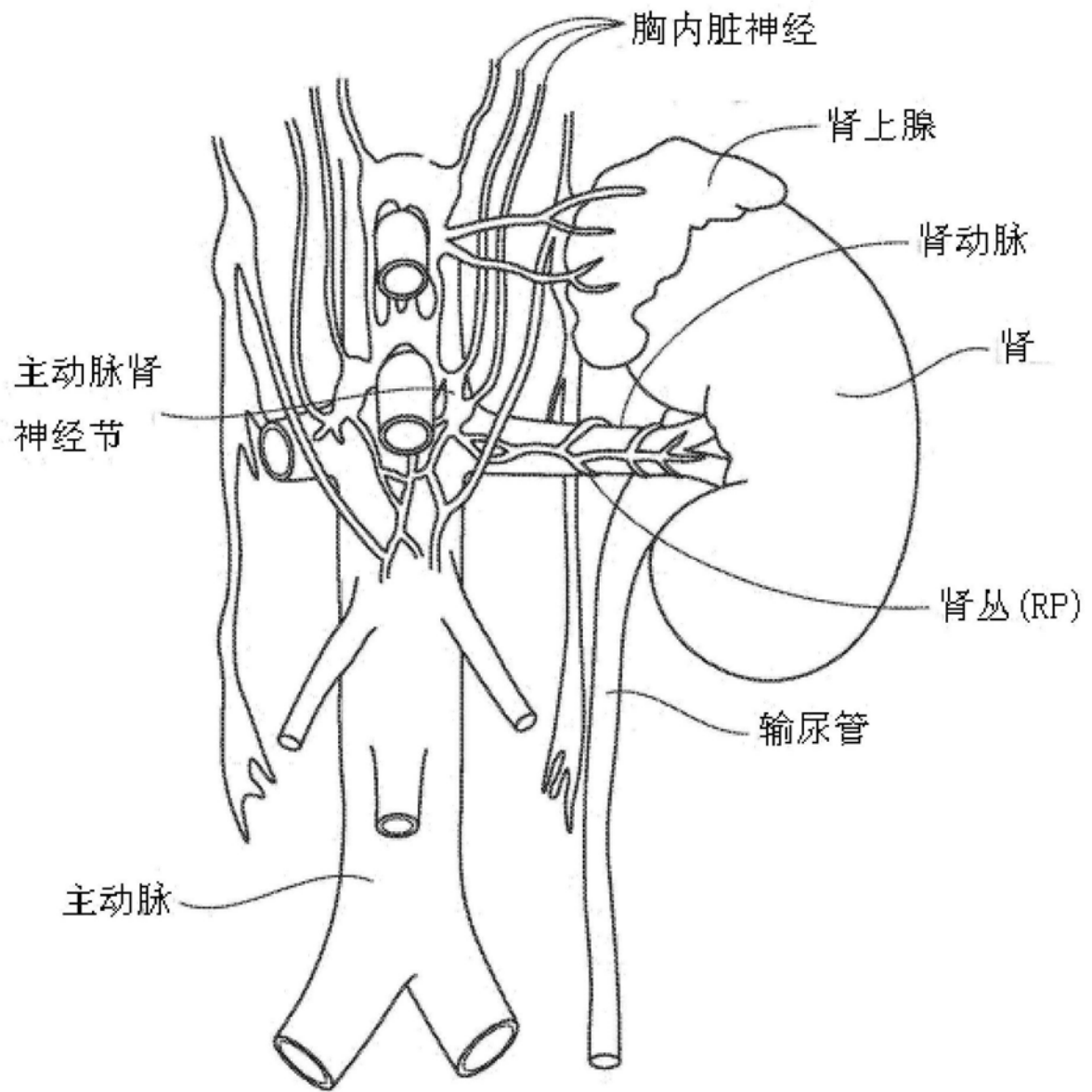


图79

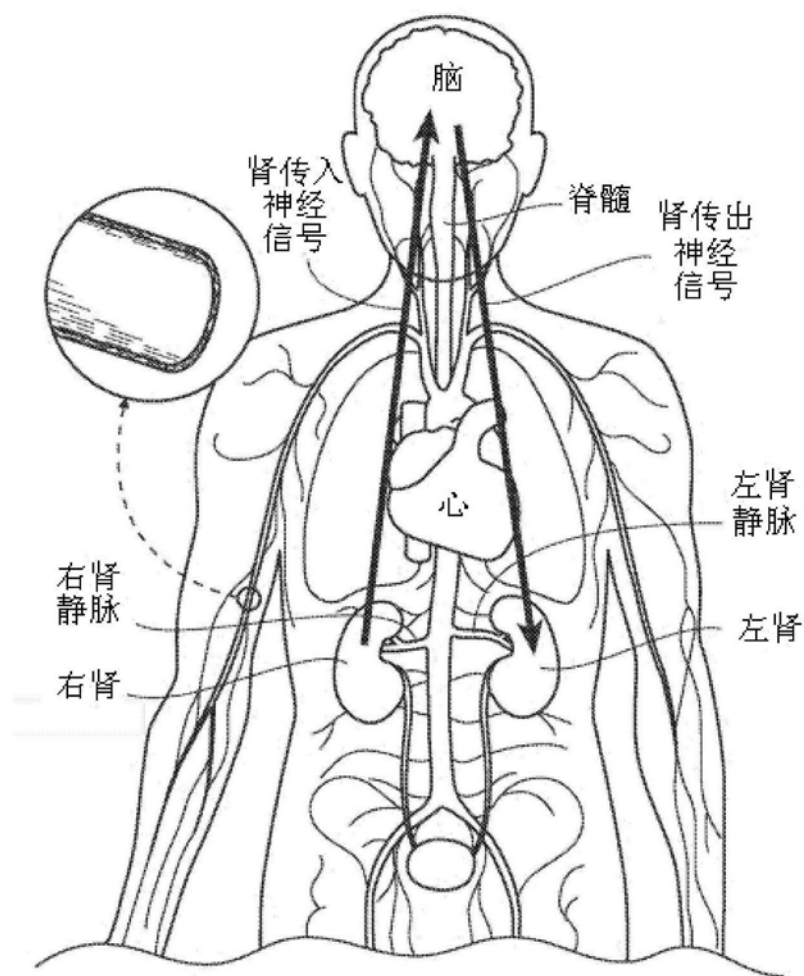


图80A

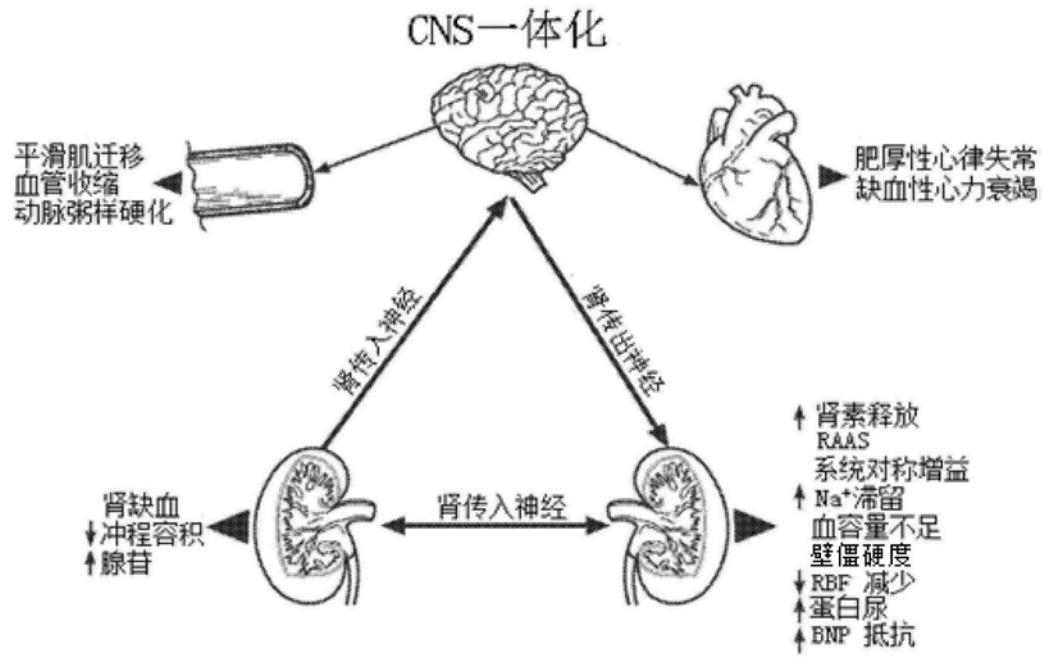


图80B

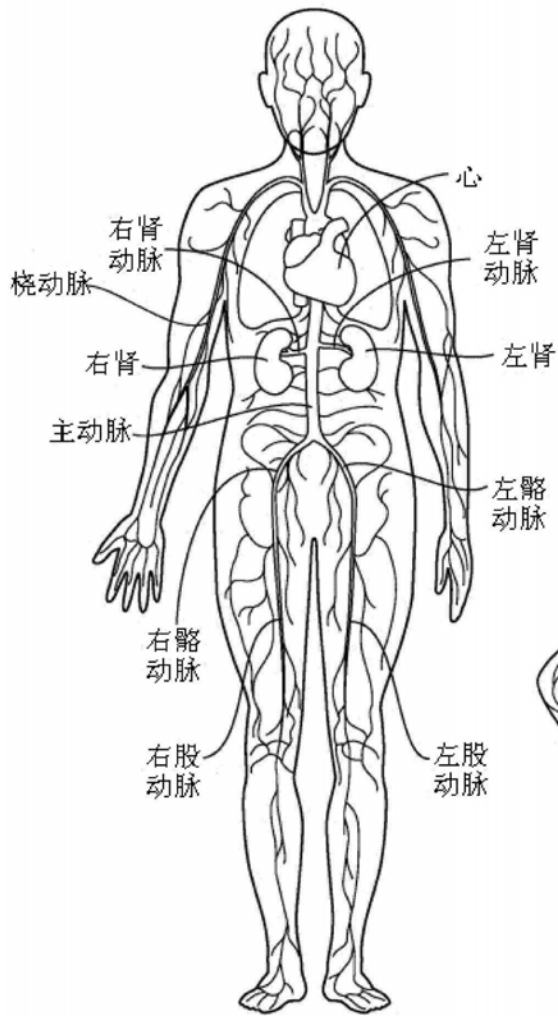


图 81A
动脉血管

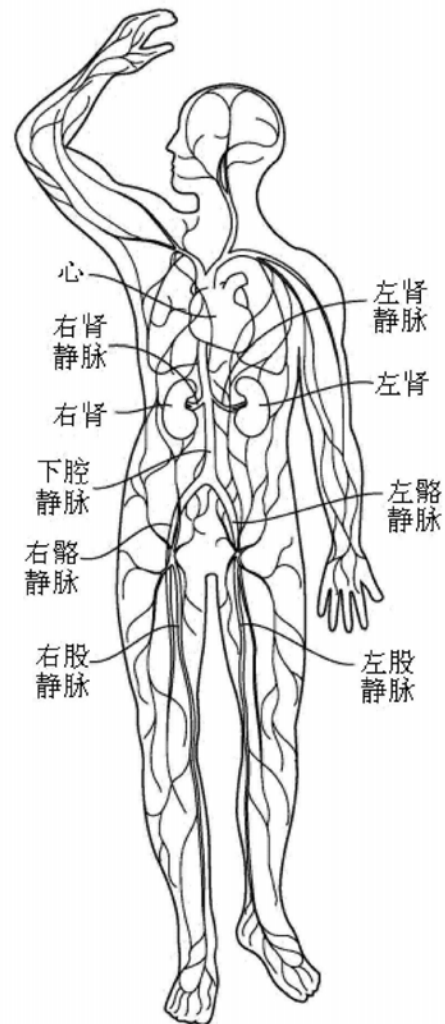


图 81B
静脉血管