

文章编号 1006-8147(2020)02-0118-05

论著

去肾交感神经术对大鼠下丘脑血管紧张素 II 及其受体的影响

安玉楠¹, 马艺杰¹, 王丽^{1,2}, 李竹青¹, 卢成志^{1,2}

(1 天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2 天津市第一中心医院心内科, 天津 300192)

摘要 目的: 为了进一步明确去肾交感神经术(RDN)作用于高血压大鼠的降压机制, 探究 RDN 对下丘脑 AngII、AT₁R 含量表达的影响。方法: 36 只自发性高血压大鼠(SHR)及 12 只同年龄 Wistar-Kyoto 大鼠(WKY), 采用随机数字表的方法将 SHR 分为对照组(DC 组, $n=12$)、RDN 手术组(术后 1 周为 DO₁ 组, $n=6$; 术后 6 周为 DO₆ 组, $n=6$)、假手术组(术后 1 周为 DS₁ 组, $n=6$; 术后 6 周为 DS₆ 组, $n=6$); WKY 组为对照组(NC 组, $n=12$)。分别于基线时、术后 1、6 周测量大鼠血压, 检测血浆 S100B 蛋白(S100B)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)水平, 肾脏去甲肾上腺素(NE)及下丘脑血管紧张素 II(AngII)、血管紧张素 II 的 1 型受体(AT₁R)mRNA 含量的变化。结果: 与 DC 组比较, DO₁ 组大鼠的收缩压下降 39.8 mmHg, 舒张压下降 30.8 mmHg, 肾脏 NE、下丘脑 AngII、下丘脑 AT₁RmRNA 含量分别降低 19.5 pg/mL、6.32 pg/mL、0.29 pg/mL (均 $P<0.05$), 且较 DS₁ 组大鼠的收缩压下降 38.8 mmHg, 舒张压下降 29.1 mmHg、肾脏 NE、下丘脑 AngII、下丘脑 AT₁RmRNA 含量分别降低 39.4 pg/mL、10.2 pg/mL、0.43 pg/mL (均 $P<0.05$); DO₁ 组大鼠较 DC 组大鼠血浆 NSE 及 S100B 明显升高, 分别升高 4.6 pg/mL、0.46 pg/mL (均 $P<0.05$), DS₁ 组与 DC 组相比, NSE、S100B 变化不明显 (均 $P>0.05$)。结论: RDN 可能是通过抑制中枢血管紧张素的释放及其受体合成, 从而降低高血压大鼠的血压, NSE、S100B 可能成为评估去肾交感神经术操作成功与否的标志物。

关键词 高血压; 去肾交感神经术; 神经元特异性烯醇化酶

中图分类号 R544.1

文献标志码 A

Effect of renal sympathetic denervation on hypothalamus Ang II and AT₁R of spontaneously hypertensive rats

AN Yu-nan¹, MA Yi-jie¹, WANG-Li^{1,2}, LI Zhu-qing¹, LU Cheng-zhi^{1,2}

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Cardiology, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China)

Abstract Objective: To explore the roles of renal sympathetic denervation (RDN) in the action of antihypertension, the change of hypothalamus AngII and AT₁R mRNA expression in spontaneously hypertensive rats was conducted before and after renal sympathetic nerve surgery. **Methods:** Thirty-six spontaneously hypertensive rats (SHR) and 12 Wistar-Kyoto rats (WKY) were randomly assigned to DC group ($n=12$), RDN group [divided into DO₁ ($n=6$) and DO₆ ($n=6$) subgroup], sham-RDN group [divided into DS₁ ($n=6$) and DS₆ ($n=6$) subgroup], and control group (NC group, $n=12$) respectively. Blood pressure, the level of plasma S100B protein, neuronspecific enolase (NSE), norepinephrine (NE), angiotensin (Ang II) level, and angiotensin II type 1 (AT₁R) mRNA of hypothalamus were detected in 1 and 6 week after RDN. **Results:** Compared with the DC group, the systolic blood pressure of the DO₁ group decreased by 39.8 mmHg, the diastolic blood pressure decreased by 30.8 mmHg, the level of renal NE, hypothalamic Ang II and hypothalamic AT₁R mRNA decreased by 19.5 pg/mL, 6.32 pg/mL, and 0.29 pg/mL, respectively (all $P<0.05$). The systolic blood pressure decreased by 38.8 mmHg and the diastolic blood pressure decreased by 29.1 mmHg compared with the DS₁ group, the expression of NE, Ang II and AT₁R mRNA decreased by 39.4 pg/mL, 10.2 pg/mL and 0.43 pg/mL, respectively (all $P<0.05$). The level of plasma NSE and S100B in the DO₁ group were significantly higher than those in the DC group, which increased by 4.6 pg/mL and 0.46 pg/mL, respectively (both $P<0.05$). The change of NSE and S100B in the DS₁ group had no significant change compared with the DC group (both $P>0.05$). **Conclusion:** RDN may reduce the blood pressure of hypertensive rats by inhibiting the release of central angiotensin and its receptor synthesis. NSE and S100B may be used as markers to evaluate the success of renal sympathetic denervation.

Key words hypertension; renal sympathetic denervation; neuronspecific enolase

高血压作为一种慢性疾病影响着全世界大约 40% 的成年人口^[1], 而在接受治疗患者中, 血压的有作者简介 安玉楠 (1991-), 女, 硕士在读, 研究方向: 冠心病; 通信作者: 卢成志, E-mail: 30817025@nankai.edu.cn。

效控制率仅为 37.5%, 是导致心力衰竭、卒中、慢性肾病甚至死亡的主要原因, 作为心血管事件和死亡的可改变风险因素, 控制高血压可以改善心血管结局。抗高血压药物如利尿剂、 β 受体阻滞剂、钙通道

阻滞剂(calcium channel blocker,CCB)、血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor,ACEI)和血管紧张素II受体阻滞剂(angiotensin II receptor blocker,ARB)等在临床治疗中取得了不错的疗效,但是还有一部分患者血压得不到理想的控制,针对这个现象,器械治疗如:射频消融导管系统、颈动脉窦压力感受器器械治疗、中央动静脉吻合术、颈动脉体消融等应运而生。其中射频消融导管系统中的去肾交感神经术(renal sympathetic denervation, RDN)是被临床应用最广泛的一种非药物治疗高血压的方式。特别是近年来 Symplicity Spyral HTN-OFF 和 Symplicity Spyral HTN-ON 研究结果的发布,证实了 RDN 可显著降低患者血压^[2-4]。本课题组已有研究成果表明 RDN 可以通过降低肾交感神经活性降低肾素-血管紧张素-醛固酮(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)活性,从而降低患者血压,然而 RDN 对于中枢系统调控血压的作用机制不够明确。因此,本研究希望通过观察 RDN 对于高血压大鼠的血压及相关指标变化,进一步了解 RDN 对于大鼠中枢系统的影响;对于特异性神经损伤因子的监测,寻找 RDN 治疗有效性的判断指标。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取健康雄性 12 周龄,体质量 250~290 g(北京维通利华实验动物有限公司提供)的自发性高血压大鼠(SHR 大鼠)36 只、Wistar-Kyoto 大鼠(WKY 大鼠)12 只。采用随机数字表法将 36 只 SHR 大鼠分为对照组(DC 组, $n=12$)、手术组(术后 1 周为 DO₁ 组, $n=6$; 术后 6 周为 DO₆ 组, $n=6$)、假手术组(术后 1 周为 DS₁ 组, $n=6$; 术后 6 周为 DS₆ 组, $n=6$)。WKY 大鼠为正常对照组(NC 组, $n=12$)。保持湿度在 40%~70%,控制温度 22~24℃。所有大鼠手术或假手术前禁食 8 h。处死动物后分别采血,取肾脏及下丘脑组织待检测。所有动物手术操作方法均遵守动物伦理委员会规程。

1.2 RDN 及假手术 用 5%的水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,后铺巾消毒。分离出肾脏动静脉,在×25 的解剖显微镜下找出肾神经,用蘸取溶于无水乙醇的 10%苯酚溶液的棉球反复涂擦肾动脉,持续 2~3 min,采用肾神经电刺激的方法评估去肾神经支配是否彻底,其余过程参考文献^[5]。假手术组用生理盐水涂抹肾动脉周围,此过程避免损伤神经。其余过程同前。

1.3 标本采集及保存 大鼠智能无创血压计 tail-cuff 法测量大鼠血压、心率。用无创血压计的尾部气

囊套在大鼠尾根部的近心端,充分扩张鼠尾血管,待收集脉搏信号出现规则波形后,充气加压至脉搏信号成为一条直线,然后放气减压,读出并记录收缩压、舒张压及心率数值,每只大鼠测量 3 次血压,取 3 次测量的平均值。之后下腔静脉采血、离心,将血浆和血清收集至 EP 管中,于 -80℃ 冰箱冷冻保存,用于血浆神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、S100B 浓度的测定。采血后迅速摘取右侧肾脏及下丘脑室旁核组织,组织处理好后于 -80℃ 冰箱冷冻保存,用于后续检测。

1.4 检测血浆中 NSE、S100B,肾脏 NE 以及下丘脑 AngII 含量 采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测静脉血中 NSE 含量,按照 ELISA 试剂盒说明进行。

1.5 检测下丘脑 AT₁R mRNA 的含量 目的基因引物由上海生工使用 Beacon Designer7 软件设计合成,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参。AT₁R 正向:5'-AAGAATCCAAGATGACTGCCC-3', AT₁R 反向:5'-TCCCACCACAAAGATGATGCTG-3'; GAPDH 正向:5'-GTTACCAGGGCTGCCTTCTC-3', 反向:5'-GGGTTTCCCCTTGATGACC-3'。将各样品 cDNA 稀释 10 倍后取 2 μL 作模板,分别用目的基因引物和内参基因引物进行扩增。在 60~95℃ 进行溶解曲线分析。用 ABI 7900 Real-Time PCR system 软件处理数据,计算最低循环数 Ct 值。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算出各样品的目的基因相对定量结果。

1.6 统计学方法 本研究数据采用 SPSS22.0 统计软件进行统计学分析;计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间均数比较用 t 检验;多组间均数比较采用单因素方差分析;变量间的相关性用直线相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠基础数据的比较 DC 组与 NC 组、DO₁ 组与 DS₁ 组、DO₆ 组与 DS₆ 组心率、体质量比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$);DC 组大鼠收缩压(SBP)、舒张压(DBP)明显高于 NC 组;DO₁ 组 SBP、DBP 较 DC 组分别降低 39.8 mmHg、30.8 mmHg ($P<0.05$);DO₁ 组 SBP、DBP 较 DS₁ 组分别降低 38.8 mmHg、29.1 mmHg ($P<0.05$),见表 1,DO₆ 与 DO₁ 组相比 SBP、DBP 有所上升,分别上升 38.6 mmHg、28.7 mmHg ($P<0.05$)。DS₆ 与 DS₁ 组相比 SBP、DBP 有所上升,但是差异没有统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.2 各组大鼠血浆去甲肾上腺素(NE)含量 DC 组

的NE含量明显高于NC组($P<0.05$),DO₁组低于DC($P<0.05$)及DS₁组(均 $P<0.05$),DO₆组明显低于DS₆组($P<0.05$),DO₆组较DO₁组有明显的升高($P<0.05$),见表2。

2.3 下丘脑血管紧张素II(AngII)、AT₁R mRNA含量的变化 DO₁组AngII、AT₁R mRNA明显低于DC组、DS₁组(均 $P<0.05$),DO₆组明显低于DS₆组($P<0.05$),DO₆组高于DO₁组($P<0.05$)。DC组下丘脑AT₁R mRNA表达较NC组明显升高($P<0.05$),见表3。

2.4 各组大鼠血浆NSE、S100B含量变化 DO₁组

大鼠NSE及S100B较DC组及DS₁组明显升高(均 $P<0.05$);DO₆组血浆NSE及S100B与SHR基线组及DS₆组比较无统计学差异(均 $P>0.05$),DC组血浆NSE及S100B水平明显高于NC组($P<0.05$);DO₆组较DO₁组NSE及S100b含量有所回升($P<0.05$),见表4。

2.5 血浆NSE、S100B与肾脏NE的相关性分析 直线相关分析示:SHR大鼠血浆NSE与肾脏NE呈负相关($r_s=-0.82, P<0.01$);血浆S100B与肾脏NE亦呈负相关($r_s=-0.934, P<0.01$)。

表1 各组大鼠心率、体质量、血压的比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Comparison of heart rate, body weight, and blood pressure of rats($\bar{x}\pm s$)

组别	NC组(n=12)	DC组(n=12)	RDN组		假手术组	
			DO ₁ (n=6)	DO ₆ (n=6)	DS ₁ (n=6)	DS ₆ (n=6)
体质量/g	256.60±12.31	258.20±11.66	263.20±10.74	329.00±9.65	263.50±11.78	331.10±8.45
心率/(bpm)	419±11	418±12	421±9	416±7	419±13	418±12
SBP/mmHg	138.30±10.48	197.80±7.28 [#]	158.00±10.45 ^a	196.60±5.96	196.80±10.3 ^b	205.3±5.90
DBP/mmHg	80.00±10.77	148.30±6.40 [#]	117.50±5.35	146.20±6.74	146.60±6.76	154.20±6.06

注:NC组:自发性高血压大鼠;DC组:去肾交感神经术组;RDN组:去肾交感神经组;DO₁:RDN 1周组;DO₆:RDN 6周组;DS₁:假手术组;DS₆:假手术6周组

表2 各组大鼠NE的比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparison of NE in each group of rats($\bar{x}\pm s$)

组别	NC组(n=12)	DC组(n=12)	RDN组		假手术组	
			DO ₁ (n=6)	DO ₆ (n=6)	DS ₁ (n=6)	DS ₆ (n=6)
NE/(pg/mL)	92.9±5.70	209.2±8.12 ^a	189.7±7.81 ^b	217.8±2.09	229.1±5.85 ^c	276.6±8.35 ^d

注:DC组与NC组比较,^a $P<0.05$;DO₁组与DC组比较,^b $P<0.05$;DO₁组与DS₁组比较,^c $P<0.05$;DO₆组与DS₆组比较,^d $P<0.05$

表3 各组大鼠下丘脑AT₁R mRNA、Ang II表达的比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Comparison of AT₁R mRNA and Ang II expression in the hypothalamus($\bar{x}\pm s$)

组别	NC组(n=12)	DC组(n=12)	RDN组		假手术组	
			DO ₁ (n=6)	DO ₆ (n=6)	DS ₁ (n=6)	DS ₆ (n=6)
AT ₁ R mRNA/(pg/mL)	0.56±0.02	1.03±0.03	0.74±0.04	1.08±0.06	1.17±0.06	2.01±0.05
ANGII/(pg/mL)	20.38±1.58	40.71±1.78	34.39±2.17	42.12±1.25	44.41±1.05	60.34±1.37

注:DO₁组与DC组、DS₁组和DO₆组相比,均 $P<0.05$;DO₆组与DS₆组相比, $P<0.05$

表4 各组大鼠血浆NSE及S100B比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Comparison of plasma NSE and S100B of rats($\bar{x}\pm s$)

组别	NC组(n=12)	DC组(n=12)	RDN组		假手术组	
			DO ₁ (n=6)	DO ₆ (n=6)	DS ₁ (n=6)	DS ₆ (n=6)
NSE/(ng/mL)	7.30±0.69	9.36±0.84 ^a	13.96±0.72 ^{bc}	11.31±0.29	9.44±0.27	10.19±0.88
S100B/(ng/mL)	0.59±0.07	0.84±0.02 ^a	1.30±0.17 ^{bc}	0.91±0.08	0.85±0.04	0.86±0.06

注:DC组与NC组比较,^a $P<0.05$;DO₁组与DC组比较,^b $P<0.05$;DO₁组与DS₁组比较,^c $P<0.05$

3 讨论

2019年公布的一项数据分析表明RDN可以显著降低患者收缩压、舒张压及24 h动态血压^[7]。但RDN的具体降压作用机制不甚明了。本研究组采用化学消融的方式损伤大鼠肾脏交感神经,希望通过中枢AT₁ mRNA、Ang II表达的监测以说明RDN术对于机体的中枢水平也有降低血压的作用。

本实验通过对大鼠血浆NE在RDN前后含量的变化的观察,发现RDN术后(DO₁组)大鼠的血浆NE含量下降明显。而NE是由肾交感神经释放的,是反映肾交感神经活性的最直观的指标。肾交感神经在高血压的发病机制中起着十分重要的作用,其过度激活已经被认为是高血压发生和发展的重要机制之一,肾交感神经作为抑制交感神经的过度激

活为治疗高血压的落脚点,越来越得到大家的青睐。肾交感神经不仅支配肾血管,还支配肾小管上皮的细胞和近球小体,通过释放 NE,作用于肾脏表面的 α 受体,从而引起肾血流量减少,肾小球滤过率下降;当其作用于近球细胞的 β 受体,近球小体就会释放肾素,血循环中的 AngII 和醛固酮增加,肾小管重吸收 Na^+ 增加,这在血容量增大导致的高血压中发挥关键作用^[9]。AngII 和 AT_1R 是 RAAS 的重要组分。近年来发现中枢神经中也有 RAAS 各种组成成分。而本实验中,RDN 组中 DO_1 组与假手术组及 DC 组相比下丘脑 AngII、 AT_1R mRNA 明显降低。Masaaki 等^[10]通过实验发现,进行过 RDN 的 CKD 小鼠的下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN)获得的输入信号减少,肾交感神经活性(renal sympathetic nerve activity, SNA)随之减低,小鼠的收缩压/舒张压明显减低^[9]。表明 RDN 可能通过减少传入 PVN 的冲动,从而减弱 PVN 对 SNA、AngII 产生的影响,降低下丘脑中 AngII 及 AT_1R 的水平,从而降低高血压患者血压水平^[10]。由于心率对于血压影响较大,Qiu 等^[11]的实验也表明进行过 RDN 的鼠 24 h 动态血压与心率没有明显的关系,表明 RDN 降低血压不是依赖于降低心率。

本实验中 NSE 是一种神经元和神经内分泌细胞所特有的酸性蛋白酶,是神经细胞分化成熟或损伤的标志,其含量与神经细胞损伤相关。国内已有江凤林等^[12]对高血压犬行 RDN 术,观察到犬血浆 NSE 水平显著升高,血压显著而持久的下降^[13]。而本研究也得到了相似的结果。表明血浆中 NSE 含量变化可能与肾交感神经元破坏的程度有关。而本研究中检测的另外一个指标 S100B 蛋白,是外周神经组成部分之一施万细胞(schwann,又名雪旺细胞)的标志蛋白。施万细胞作为一种神经胶质细胞,能分泌神经营养因子,促进受损神经元的修复及轴突的再生。S100B 在血浆中含量的多少则反映施万细胞破坏的程度。在脑卒中领域,NSE 和 S100B 往往被认为是反映中枢神经损伤的生物标志物^[14]。本实验中 DO_1 组 S100B 较 DC 组、NC 组明显升高。说明 S100B 也能在一定程度上反映肾交感神经损伤的程度。

本实验结果还能发现 DO_6 组 AngII、NE 较 DO_1 组有所升高;NSE、S100B 较 DO_1 组有明显的回落。究其原因,可能为实验操作时,肉眼识别的交感神经数目有限,没能将肾交感神经消融完全。所以在消融了一部分神经后,引起了 NE、AngII 的降低,NSE、S100B 也因为化学消融损伤了细胞所以有一过性升高。但在这之后,也就是肾交感神经代偿性的生长

后,NE、AngII 又出现了升高。而血浆中 NSE、S100B 随着机体代谢,含量变少,仅残存机体里的是仍旧未代谢完的。

从本研究的结果可以看出:(1)RDN 可显著性降低血压,并不依赖于心率的降低;(2)RDN 可显著的降低肾脏 NE 水平;(3)RDN 可降低下丘脑 AT_1R mRNA、AngII 的表达。因此,笔者推测 RDN 可通过降低下丘脑 AngII、 AT_1R 水平,以及降低外周交感神经活性,即降低肾脏 NE 水平,降低血压。

另外,本次研究存在一些局限性,包括:(1)未能通过油红染色等直观的实验方法反映肾脏交感神经细胞及肾动脉的 RDN 前后对比;(2)观察时间不够长,因此不能评估 RDN 对于高血压动物的更长远影响;(3)对大鼠的肾动脉交感神经消融不完全。

综合上述结果可以推测:第一,RDN 可能是通过下调下丘脑 AngII 和 AT_1R mRNA 的表达降低交感神经活性,从而降低血压。此结果在本研究组 RDN 对心力衰竭的相关研究中也得到了证实。第二,NSE、S100B 水平或许可作为判断 RDN 治疗成功与否的标志。第三,RDN 后,动物的肾交感神经消融得不够彻底时,可能在一段时间后,肾交感神经会发生代偿生长。

参考文献:

- [1] Choe W S, Song W H, Jeong C W, et al. Anatomic conformation of renal sympathetic nerve fibers in living human tissues[J]. *Sci Rep*, 2019,9(1):4831
- [2] Krum H, Schlaich M P, Sobotka P A, et al. Percutaneous renal denervation in patients with treatment-resistant hypertension: final 3-year report of the symplicity HTN-1 study[J]. *Lancet*, 2014, 383 (9917): 622
- [3] Esler M D, Bohm M, Sievert H, et al. Catheter-based renal denervation for treatment of patients with treatment-resistant hypertension: 36 month results from the SYMPPLICITY HTN-2 randomized clinical trial[J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(26): 1752
- [4] Townsend R R, Mahfoud F, Kandzari D E, et al. Catheter-based renal denervation in patients with uncontrolled hypertension in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED): a randomised, sham-controlled, proof-of-concept trial[J]. *Lancet*, 2017, 390(10108): 2160
- [5] Pinkham M I, Loftus M T, Amirapu S, et al. Renal denervation in male rats with heart failure improves ventricular sympathetic nerve innervation and function[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2017, 312(3): R368
- [6] 王丽,卢成志,马艺杰,等.去肾交感神经术对自发性高血压大鼠中枢促丝裂原活化蛋白激酶及核转录因子 κB 的影响[J]. *中华高血压杂志*, 2018, 26(1): 36
- [7] Sardar P, Bhatt D L, Kirtane A J, et al. Sham-controlled randomized

(下转第 157 页)

- surgical treatment in patients with papillary microcarcinoma of the thyroid[J]. *Thyroid*, 2003, 13(4): 381
- [5] Davies L, Welch H G. Current thyroid cancer trends in the United States[J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2014, 140(4): 317
- [6] Tessler F N, Middleton W D, Grant E G, et al. ACR Thyroid imaging reporting and data system TI-RADS white paper of the ACR TI-RADS committee[J]. *J Am Coll Radio*, 2017, 14(5): 587
- [7] Kwak J Y, Han K H, Yoon J H, et al. Thyroid imaging reporting and data system for US features of nodules: a step in establishing better stratification of cancer risk[J]. *Radiology*, 2011, 260(3): 892
- [8] Bonavita J, Mayo J, Babb J S, et al. Pattern recognition of benign nodules at ultrasound of the thyroid: which nodules can be left alone[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2009, 193(1): 207
- [9] Reading C C, Charboneau J W, Hay I D, et al. Sonography of thyroid nodules: a "classic pattern" diagnostic approach[J]. *Ultrasound Q*, 2005, 21(3): 157
- [10] Gyu N, Hwan B, Yong S, et al. Thyroid imaging reporting and data system risk stratification of thyroid nodules: categorization based on solidity and echogenicity[J]. *Thyroid*, 2016, 26(4): 562
- [11] Moon W J, Jung S L, Lee J H, et al. Benign and malignant thyroid nodules: US differentiation—multicenter retrospective study[J]. *Radiology*, 2008, 247(3): 762
- [12] Hoang J K, Lee W K, Lee M, et al. U S features of thyroid malignancy: pearls and pitfalls[J]. *Radiographics*, 2007, 27(3): 847
- [13] Kamaya A, Tahvildari A M, Patel B N, et al. Sonographic detection of extracapsular extension in papillary thyroid cancer[J]. *J Ultrasound Med*, 2015, 34(12): 2225
- [14] Kim H, Kim J A, Son E J, et al. Preoperative prediction of the extra-thyroidal extension of papillary thyroid carcinoma with ultrasonography versus MRI: a retrospective cohort study[J]. *Int J Surg*, 2014, 12(5): 544
- [15] Arpacı D, Özdemir D, Cuhaci N, et al. Evaluation of cytopathological findings in thyroid nodules with macrocalcification: macrocalcification is not innocent as it seems[J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2014, 58(9): 939
- [16] Park Y J, Kim J A, Author C, et al. Thyroid nodules with macrocalcification: sonographic findings predictive of malignancy [J]. *Yonsei Med J*, 2014, 55(2): 339
- [17] Ito Y, Miyauchi A. Nonoperative management of low-risk differentiated thyroid carcinoma[J]. *Curr Opin Oncol*, 2015, 27(1): 15
- [18] Leboulleux S, Tuttle R M, Pacini F, et al. Papillary thyroid microcarcinoma: time to shift from surgery to active surveillance? [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2016, 4(11): 933

(2019-06-06 收稿)

(上接第 121 页)

- trials of catheter-based renal denervation in patients with hypertension[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(13): 1633
- [8] Shen Z, Weng C, Zhang Z, et al. Renal sympathetic denervation lowers arterial pressure in canines with obesity-induced hypertension by regulating GAD65 and AT1R expression in rostral ventrolateral medulla[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2018,40(1): 49
- [9] Konno S, Hirooka Y, Kishi T, et al. Sympathoinhibitory effects of telmisartan through the reduction of oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla of obesity-induced hypertensive rats[J]. *J Hypertens NLM*, 2012, 30(10):1992
- [10] Nishihara M, Takesue K, Hirooka Y. Olmesartan combined with renal denervation reduces blood pressure in association with sympathoinhibitory and aldosterone-reducing effects in hypertensive mice with chronic kidney disease[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2019, 41(3):211
- [11] Qiu M, Shan Q, Chen C, et al. Renal sympathetic denervation improves rate control in patients with symptomatic persistent atrial fibrillation and hypertension[J]. *Acta Cardiol*, 2016 ,71(1): 67
- [12] Hansen J H, Kissner L, Logoteta J, et al. s100b and its relation to cerebral oxygenation in neonates and infants undergoing surgery for congenital heart disease[J]. *Congenit Heart Dis*, 2019, 14(3): 427
- [13] 江凤林, 王新国, 朱福音, 等. 高血压犬经导管射频消融去肾交感神经术后血压及神经损伤因子的变化[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2014, 39(3): 245
- [14] Kanavaki A, Spengos K, Moraki M, et al. Serum levels of s100b andNSE proteins in patients with non-transfusion-dependent thalassemia as biomarkers of brain ischemia and cerebral vasculopathy[J]. *Int J Mol Sci*.2017,18(12): 2724

(2019-07-03 收稿)