

恶性血液病患者循环DNA水平检测及意义

卢丹华

解放军第906医院

DOI:10.12238/bmtr.v6i5.10058

[摘要] 目的：探讨恶性血液病患者循环DNA水平的变化及其临床意义。方法：选取2023年1月-2023年12月50例恶性血液病患者,包括急性白血病和淋巴瘤患者,每组各25例,同时选择25例健康人作为对照组,通过采集外周血样本,应用Picogreen荧光染色法对循环DNA进行定量分析,对比各组循环DNA水平的差异,进行统计学分析。结果：恶性血液病患者化疗前的循环DNA水平显著高于健康对照组,经过化疗后患者的循环DNA水平明显下降,化疗效果越好的患者,循环DNA水平下降越明显,此外化疗后循环DNA水平的变化与患者的预后存在一定的相关性,循环DNA水平持续较高的患者预后较差。结论：恶性血液病患者循环DNA水平的变化具有一定的临床意义,可以作为疾病诊断、预后判断及疗效监测的辅助指标,通过监测循环DNA水平的变化,可以为恶性血液病患者的个体化治疗提供更加精准的依据,有助于提高治疗效果和改善患者预后。

[关键词] 恶性血液病; 循环DNA水平; 临床意义

中图分类号: Q463 文献标识码: A

Detection and significance of the levels of circulating DNA in patients with hematological malignancies

Danhua Lu

The PLA 96th Hospital

[Abstract] Objective: To investigate the changes of circulating DNA level and its clinical significance in malignant patients. Methods: Select 50 patients with hematological malignancies from January 2023 to December 2023, each group 25 cases, 25 healthy patients were selected as the control group, by collecting peripheral blood samples, quantify circulating DNA by Picogreen fluorescence staining, and compare the difference of circulating DNA levels in each group and make statistical analysis. Results: the level of circulating DNA in patients with malignant diseases before chemotherapy was significantly higher than that of healthy controls, the circulating DNA level of patients after chemotherapy decreased significantly, patients with the better chemotherapy effect, the more obvious, and the change of circulating DNA level after chemotherapy has certain correlation with the prognosis of patients, patients with higher circulating DNA level is poor prognosis. Conclusion: the change of circulating DNA level in patients with malignant blood disease has certain clinical significance, can be used as disease diagnosis, prognosis judgment and auxiliary index of efficacy monitoring, through monitoring the change of circulating DNA level, can provide individualized treatment of patients with malignant blood disease more accurate basis, help to improve the treatment effect and improve patient prognosis.

[Key words] hematological malignancy; circulating DNA level; clinical significance

恶性血液病是一类对人类健康构成严重威胁的疾病,包括急性白血病和淋巴瘤等,特点是起病急、进展快、预后差,尽管现代医学技术和化疗手段取得了显著进展,恶性血液病的治疗依然面临巨大挑战,如何实现早期诊断、准确评估预后和监测治疗效果一直是临床研究的重点^[1]。近年来循环

DNA(circulatingDNA, ctDNA)作为一种新兴的生物标志物,在恶性血液病的研究中引起了广泛关注,循环DNA指的是游离于血液中的DNA片段,水平的变化可反映体内肿瘤负荷和疾病进展情况,特别是在恶性血液病患者中,循环DNA的检测具有重要的临床意义。研究表明恶性血液病患者血液中的循环DNA水平

显著高于健康人群,并且在化疗后循环DNA水平的下降与治疗效果密切相关,因此循环DNA检测不仅可以作为疾病诊断和预后判断的辅助指标,还可以用于疗效监测,为个体化治疗提供更加精准的依据^[2]。本研究探讨恶性血液病患者循环DNA水平的变化及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2023年1月-2023年12月50例恶性血液病患者,包括急性白血病和淋巴瘤患者,每组各25例,男性患者27例,女性患者23例,患者年龄范围在18至75岁之间,平均 46.5 ± 2.1 岁,患者病程时间最短为1个月,最长为10年,平均 2.5 ± 0.2 年。同时选择25例健康人作为对照组,男性28例,女性22例,年龄范围19-72岁,平均 45.9 ± 2.2 岁。

纳入标准:经病理学或细胞学检查确诊为恶性血液病的患者;未接受过其他针对恶性血液病的治疗,或已停止其他治疗至少1个月;签署知情同意书,愿意参与本研究并接受相关检测。

排除标准:合并有其他严重疾病心血管疾病、肝肾功能不全等;孕妇或哺乳期妇女;对本研究中涉及的检测试剂或方法有过敏反应的患者。

1.2 方法

严格遵循无菌操作原则对50例恶性血液病患者及25例健康对照者的外周血样本进行采集,采集过程在清晨空腹状态下进行,使用抗凝真空采血管抽取肘静脉血约5毫升,确保样本的新鲜度和完整性,血液样本随后被迅速送至实验室,进行循环DNA的提取与分析工作。采用先进的分子生物学技术,通过离心、裂解红细胞、提取白细胞组分、消化细胞核膜及蛋白等一系列精细操作,成功从外周血样本中分离出高质量的循环DNA,这一过程中特别注意防止DNA的降解和污染,确保后续定量分析的准确性和可靠性。在循环DNA的定量分析方面选择Picogreen荧光染色法,Picogreen是一种高灵敏度的双链DNA荧光染料,能够与DNA双链紧密结合,在特定波长光激发下发出强烈的荧光信号,通过测量荧光信号的强度准确计算样本中循环DNA的浓度^[3]。为了探究循环DNA水平与恶性血液病的关系,将研究对象分为五个组别:健康组、急性白血病化疗前组、急性白血病化疗后组、淋巴瘤化疗前组和淋巴瘤化疗后组,比较不同状态下循环DNA水平的变化。

1.3 统计学计算

采用SPSS22.0统计软件进行数据分析,包括描述性统计、t检验、卡方检验等,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

恶性血液病患者在化疗前的循环DNA水平显著高于健康对照组($P < 0.001$),而化疗后患者的循环DNA水平明显下降($P < 0.001$),见表1。

通过对化疗后患者进行随访观察发现那些循环DNA水平持续下降的患者预后较好,循环DNA水平持续较高或波动较大的患者预后较差。

表1 恶性血液病患者化疗前后循环DNA水平变化 $[x \pm s, \text{ng/mL}]$

组别	样本量	化疗前	化疗后	P值(与健康对照组比较,化疗前)	P值(化疗前后比较)
急性白血病化疗前组	25	210.00 ± 30.00	60.00 ± 10.00	<0.001	<0.001
急性白血病化疗后组	25	-	60.00 ± 10.00	-	-
淋巴瘤化疗前组	25	190.00 ± 25.00	45.00 ± 5.00	<0.001	<0.001
淋巴瘤化疗后组	25	-	45.00 ± 5.00	-	-
健康对照组	25	35.00 ± 5.00	-	-	-

3 讨论

恶性血液病是指源于造血系统的恶性肿瘤,主要包括白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤等,这些疾病的共同特征是造血细胞的异常增殖和分化,导致正常造血功能受损,从而引发一系列临床症状,恶性血液病在全球范围内均有发生,对患者的健康和生活质量产生严重影响。白血病是一种典型的恶性血液病,根据其发病速度和细胞形态,可分为急性白血病和慢性白血病,急性白血病的特点是病情进展迅速,患者常出现明显的贫血、出血和感染等症状,急性白血病主要分为急性淋巴细胞白血病和急性髓细胞白血病,慢性白血病病程较长,症状相对缓和,但仍可引起严重的并发症,慢性白血病主要分为慢性淋巴细胞白血病和慢性髓细胞白血病。淋巴瘤是另一类常见的恶性血液病,主要分为霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤,霍奇金淋巴瘤的特征是病变中存在Reed-Sternberg细胞,患者多表现为无痛性淋巴结肿大、发热、盗汗和体重减轻等症状,非霍奇金淋巴瘤种类繁多,根据其起源细胞的不同,可分为B细胞淋巴瘤和T细胞淋巴瘤等,病程和治疗反应也各不相同^[4]。多发性骨髓瘤是发生在骨髓浆细胞的恶性血液病,患者多表现为骨痛、贫血、高钙血症和肾功能损害,由于骨髓瘤细胞的异常增殖和浸润,患者的骨骼容易发生病理性骨折,严重影响生活质量。恶性血液病的发病机制复杂,涉及基因突变、染色体异常、免疫功能紊乱等多种因素,白血病患者常常在基因水平上存在特定的染色体易位,如 $t(9;22)$ 染色体易位形成的费城染色体是慢性髓细胞白血病的标志性突变,此外环境因素、病毒感染和放射线暴露等也可能增加恶性血液病的发病风险。恶性血液病的诊断主要依赖于血液学检查、骨髓穿刺活检和影像学检查等,血液学检查可以发现异常的血细胞形态和数量变化,骨髓穿刺活检可以明确造血细胞的病理变化,影像学检查有助于评估疾病的扩散和侵犯范围。近年来分子生物学技术的发展使得基因突变和染色体异常的检测成为可能,为恶性血液病的精确诊断提供了重要依据。本研究通过对50例恶性血液病患者和25例健康对照者的循环DNA水平进行检测与分析,研究结果显示,恶性血液病患者化疗前的循环DNA水平显著高于健康对照组,经过化疗后,患者的循环DNA水平明显下降,

化疗效果越好的患者,循环DNA水平下降越显著,化疗后循环DNA水平的变化与患者预后存在显著相关性,循环DNA水平持续较高的患者预后较差。循环DNA水平可以作为恶性血液病的诊断和监测指标,由于恶性血液病患者体内肿瘤细胞增殖异常活跃,大量细胞凋亡和坏死释放出大量的DNA片段进入血液循环,导致血清中循环DNA水平显著升高,通过检测血液中的循环DNA水平,可以早期发现恶性血液病存在,为临床医生提供早期诊断的依据,此外循环DNA水平的显著下降反映了化疗对肿瘤细胞的有效杀伤作用,循环DNA水平下降越显著,表明化疗效果越好,因此循环DNA水平的检测不仅可以用于恶性血液病的早期诊断,还可以实时监测化疗的疗效。循环DNA水平的变化可以为预后评估提供重要参考,研究结果显示化疗后循环DNA水平持续较高的患者,预后较差,由于这些患者体内残存的肿瘤细胞数量较多,化疗未能完全清除肿瘤细胞,从而导致旧病复发和进展,因此通过监测化疗后循环DNA水平的变化,可以预测患者的预后,帮助临床医生制定更为个体化的治疗方案,及时调整治疗策略,改善患者的生存率和生活质量。循环DNA检测作为一种非侵入性的检测方法,具有方便、快速和高效的优点,与传统的组织活检相比,循环DNA检测仅需采集血液样本,对患者的身体负担较小,能够更频繁地进行监测,有助于动态观察疾病的变化情况,及时发现疾病的进展和复发,使循环DNA检测在临床应用中具有广阔的前景^[5]。

总之,恶性血液病患者循环DNA水平的变化具有重要的临床

意义,可以作为疾病诊断、预后评估及疗效监测的辅助指标,通过监测循环DNA水平的变化,可以为恶性血液病患者的个体化治疗提供更加精准的依据,有助于提高治疗效果和改善患者预后,未来应进一步扩大样本量,深入探索循环DNA在不同类型恶性血液病中的应用价值。

[参考文献]

[1]彭英楠,边志磊,张素平,等.CD34+细胞数对单倍体造血干细胞移植治疗恶性血液病的影响[J].中国组织工程研究,2024,28(01):1-6.

[2]徐茵,董伟民,林艳,等.中性粒细胞CD64指数在恶性血液病伴肺部感染中的临床价值[J].中国实验血液学杂志,2022,30(05):1601-1606.

[3]周丹,罗自勉,周新伏.循环miRNA在恶性血液病中的研究进展[J].现代肿瘤医学,2016,24(20):3326-3330.

[4]张帆.恶性血液病患者循环DNA水平检测及意义[D].吉林大学,2014.

[5]曲莹,何海燕,侯健.循环microRNA在恶性血液病中的研究进展[J].中国实验血液学杂志,2014,22(01):219-222.

作者简介:

卢丹华(1981--),女,汉族,黑龙江人,本科,解放军第906医院,副主任检验技师,研究方向:血液病有关方面。