

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.16.012

血浆游离 mtDNA 在急性肺栓塞中的诊断价值及其与病情严重程度及临床常用指标的相关性

谭娇娜¹, 杨泽华^{2△}

1. 山西医科大学第一临床医学院, 山西太原 030001; 2. 山西医科大学
第一医院检验科, 山西太原 030001;

摘要:目的 探讨血浆游离线粒体 DNA(mtDNA)水平在急性肺栓塞(APE)中的诊断价值及其与病情严重程度和临床常用指标的相关性。**方法** 选取 2021 年 3 月至 2022 年 12 月山西医科大学第一医院呼吸与危重症医学科收治的 90 例首次经 CT 肺动脉造影(CTPA)确诊的 APE 患者为研究对象,分为高危组、中危组、低危组,每组 30 例,选择同期年龄相似的健康体检者 30 例作为健康组。记录所有研究对象一般资料,采集所有研究对象入院第 1 天未经治疗的血浆和全血标本,对其进行血常规、D-二聚体(D-D)、纤维蛋白(原)降解产物(FDP)、心肌肌钙蛋白 T(cTnT)、N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)等指标检测;提取上述所有受试者血浆游离 mtDNA,应用实时荧光定量聚合酶链反应标准曲线法检测血浆游离 mtDNA 水平,比较各组 mtDNA 及其他临床常用指标,并分析 mtDNA 与其他临床常用指标的相关性;使用受试者工作特征(ROC)曲线评价血浆游离 mtDNA 和其他临床常用指标对 APE 的诊断价值。**结果** 健康组、低危组、中危组、高危组血浆游离 mtDNA 水平分别为 272(199)、813(529)、2 983(3 327)和 10 097(6 889)copies/mL,mtDNA 水平在高危组、中危组、低危组和健康组中依次降低,两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。APE 患者血浆游离 mtDNA 水平与白细胞计数(WBC)、D-D、FDP、cTnT、NT-proBNP 呈正相关($r=0.304, 0.446, 0.532, 0.673, 0.666, P<0.05$);与 RBC、血红蛋白(Hb)、红细胞体积分布宽度(RDW)、血小板计数(PLT)无相关关系($P>0.05$);mtDNA 诊断 APE 的 ROC 曲线下面积为 0.995,灵敏度为 91%,特异度为 90%,cut-off 值为 557 copies/mL。**结论** APE 患者血浆游离 mtDNA 水平升高,并与疾病危险分层有关;血浆游离 mtDNA 水平有助于诊断 APE,mtDNA 也可作为预测 APE 病情严重程度的一种标志物。

关键词:线粒体 DNA; 急性肺栓塞; 疾病危险分层

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)16-2355-06

The diagnostic value of plasma free mtDNA in acute pulmonary embolism and its correlation with disease severity and common clinical indicators

TAN Jiaona¹, YANG Zehua^{2△}

1. The First Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shaanxi 030001, China

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value of plasma free mitochondrial DNA (mtDNA) in acute pulmonary embolism (APE) and its correlation with the severity of the disease and common clinical indicators. **Methods** A total of 90 patients with APE diagnosed for the first time by CT pulmonary arteriography (CTPA) in the Department of Respiratory and Critical Care Medicine of the First Hospital of Shanxi Medical University from March 2021 to December 2022 were selected as the study subjects, including high-risk group, medium-risk group and low-risk group, with 30 cases in each group. A total of 30 healthy subjects of similar age were selected as the healthy group. General data of all subjects were recorded, untreated plasma and whole blood samples were collected from all subjects on the first day of admission, and blood routine, D-dimer (D-D), fibrin degradation product (FDP), cardiac troponin T(cTnT), N-terminal brain natriuretic peptide precursor (NT-proBNP) were detected. Plasma free mtDNA was extracted from all the above subjects, and the plasma free mtDNA level was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reac-

tion standard curve method, the mtDNA and other common clinical indicators were compared in different group, the correlations between other common clinical indicators and mtDNA were analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic value of plasma free mtDNA and other common clinical indicators in APE. **Results** Plasma free mtDNA levels in healthy group, low-risk group, medium-risk group and high-risk group were 272 (199), 813 (529), 2 983 (3 327) and 10 097 (6 889) copies/mL respectively. The levels of mtDNA were successively decreased in high-risk group, medium-risk group, low-risk group and healthy group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of plasma free mtDNA in APE patients correlated positively with WBC, D-D, FDP, cTnT, NT-proBNP ($r = 0.304, 0.446, 0.532, 0.673, 0.666, P < 0.05$), there was no correlation with RBC, Hb, RDW and PLT ($P > 0.05$). The area under ROC curve for mtDNA diagnosis of APE was 0.995, the sensitivity was 91%, the specificity was 90%, and the cut-off value was 557 copies/mL. **Conclusion** The level of plasma free mtDNA increases in APE patients and correlated with the severity of disease risk stratification. The level of free mtDNA in plasma is helpful for the diagnosis of APE and mtDNA can also be used as a marker to predict the severity of APE.

Key words: mitochondrial DNA; acute pulmonary embolism; disease risk stratification

急性肺栓塞(APE)是以各种栓子阻塞肺动脉或其分支为发病原因的一组疾病或临床综合征的总称,发病率和病死率较高,是继急性心肌梗死和脑卒中之后心血管死亡的第三大常见原因,给家庭和国家带来了沉重的疾病负担^[1]。目前,确诊 APE 的金标准为多层螺旋 CT 肺动脉造影(CTPA),但存在费用昂贵和一定程度的不便捷性^[2]。线粒体 DNA(mtDNA)是来自线粒体双链分子的小 DNA 片段,正常生理情况下,mtDNA 被包裹在线粒体的双层膜结构中,故这些分子在健康人的外周血中以非常低的水平循环,当组织出现氧化应激或者缺氧等损伤时,组织内线粒体双层膜结构遭到破坏,mtDNA 便从凋亡、坏死的细胞中释放入血,导致外周血游离 mtDNA 水平增加^[3]。本研究旨在探讨血浆游离 mtDNA 的变化,分析其与 APE 患者病情严重程度、临床常用指标间的相关性,并探讨其对 APE 的诊断价值,从而为 APE 的临床诊治提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2021 年 3 月至 2022 年 12 月就教于山西医科大学第一医院(以下简称本院)呼吸与危重症医学科 90 例首次经 CTPA 确诊的 APE 患者作为研究对象。(1)纳入标准:① APE 的诊断符合 APE 指南^[4];②发病到入院时间小于 24 h;③入组前未经抗凝或溶栓治疗;④临床资料完整。(2)排除标准:①年龄 <18 岁;②患者住院时间不满 48 h;③临床资料不完整;④处于终末期心脏或肾衰竭;⑤合并可能与血浆 mtDNA 水平升高相关的疾病(肿瘤、多发性创伤、脑卒中、严重脓毒症或感染性休克、急性心肌梗死、心脏骤停)等;⑥存在免疫功能低下或免疫缺陷、免疫抑制。按照欧洲心脏病学会(ESC)和欧洲呼

吸学会(ERS)共同制定的《急性肺栓塞诊断和治疗指南》^[4],根据 APE 患者的血流动力学指标、临床症状、肺栓塞风险评分(PESI)、肺栓塞严重指数简化版(sPESI)评分、是否存在右心功能不全和心脏生物标志物异常,将 90 例患者分为低危组、中危组、高危组^[4],每组 30 例。选取同期年龄匹配的健康体检者 30 例作为健康组。所有研究对象或其家属签署知情同意书,本研究符合医学伦理学标准,并通过了本院伦理委员会的批准(批件号 KYLL-2023-027)。

1.2 仪器与试剂 使用仪器主要包括美国 QuantStudio™5 实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪、全自动血常规分析仪(日本 Sysmex XN-20)、全自动凝血分析仪(日本 Sysmex CS5100)、全自动化学发光仪(中国万泰生物 Caris200)、不同型号离心机、各种规格移液器等。使用试剂盒主要包括实时荧光定量 PCR 试剂盒(大连 TaKaRa 公司)、寡核苷酸引物(大连宝生物工程有限公司)、DNA 提取试剂盒(中国 OmegaBio-Tek 公司,SE Blood DNA Kit 50)。使用 Oligo 6.0 设计特异性引物,根据所设计引物的碱基序列合成引物(由大连宝生物工程有限公司完成)。寡核苷酸引物序列为 16SrRNA F: 5'-ACTTTG-CAAGGAGAGCCAAA-3'; 16SrRNA R: 5'-TGGA-CAACCAGCTATCACCA-3'。

1.3 方法

1.3.1 临床资料收集 收集患者性别、年龄、出入院时间、入院诊断、既往基础疾病,严格记录患者心率、呼吸、血压、脉搏、体温、动脉血氧饱和度(SaO_2)等一般资料,记录患者的超声心动图、CTPA 检查结果,同时观察患者治疗过程中有无心脏骤停、梗阻性休克、持续性低血压等血流动力学不稳定状况。

1.3.2 血浆游离 mtDNA 提取 采集所有研究对象入院第 1 天未经治疗的肘静脉血 5 mL,经乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝(紫管),将所有标本于 30 min 内经 3 000×g 离心 10 min,吸取上清液 200 μL 于高压灭菌的 EP 管中;再将上清液于高速离心机室温 18 000×g 离心 10 min,轻轻吸取上清液 150 μL 于新的 EP 管中,—80 ℃冰箱冻存,用于血浆游离 mtDNA 检测。严格按照 DNA 提取试剂盒说明书提取 mtDNA。

1.3.3 其他临床常用指标检测 采集所有受试者 5 mL 未经抗凝或溶栓治疗的肘静脉血于紫管(含 EDTA-K₂ 抗凝剂)中,使用日本 Sysmex XN-20 全自动血常规分析仪进行血常规检测;同时采集 5 mL 肘静脉血于淡蓝管(含枸橼酸钠抗凝剂)中,使用日本 Sysmex CS5100 全自动凝血分析仪并采用免疫比浊法进行 D-二聚体(D-D)、纤维蛋白(原)降解产物(FDP)检测;另外采集 5 mL 肘静脉血于金黄色管(含促凝剂)中,采用中国万泰生物 Caris200 全自动发光仪(磁微粒法)进行心肌肌钙蛋白 T(cTnT)和 N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)检测。所有试剂均使用原装配套试剂,操作严格按照试剂说明书及相关标准操作规程进行。

1.4 标准曲线的制备 通过分光光度计测定并计算得到质粒的浓度为 2.05×10¹² copies/mL,用灭菌去离子水依次倍比稀释,得到浓度分别为 2.05×10¹²、2.05×10¹¹、2.05×10¹⁰、2.05×10⁹、2.05×10⁸、2.05×10⁷ copies/mL 的 6 个标准品,使用美国 QuantStudio™5 PCR 仪制备标准曲线。PCR 反应体系为 10 μL,95 ℃预变性 10 s,95 ℃变性 5 s,58 ℃退火 8 s,72 ℃延伸 10 s,共 40 个循环。标准曲线回归方程为 $Y=-3.772X+55.079(R^2=0.995)$,其中 X 为模板拷贝数以 10 为底的对数值,Y 为 Ct 值。

1.5 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)[$M(QR)$]表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;相关分析采用 Spearman 秩相关;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估各项指标对 APE 的诊断价值,根据约登指数[即(灵敏度+特异度—1)]确定 cut-off 值,计算变量的灵敏度和特异度,并计算其 95%可信区间(CI)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组基线资料比较 各组年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$);高危组住院天数明显多于低危组,差异有统计学意义($P<0.001$),高危组心率明显快于低危组与健康组,差异有统计学意义($P<0.05$);高危组、中危组和低危组 SaO₂ 均低于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$);高危组的收缩压(SBP)明显低于中危组、低危组和健康组,高危组的舒张压(DBP)明显低于低危组和健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 各组血常规及其他临床常用指标比较 各组红细胞体积分布宽度(RDW)、血小板计数(PLT)水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);高危组白细胞计数(WBC)、D-D、FDP、cTnT 水平明显高于中危组、低危组和健康组,差异有统计学意义($P<0.05$);高危组红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)水平明显低于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$);高危组 NT-proBNP 水平明显高于低危组和健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2、3。

表 1 各组基线资料比较[n/n 或 M(QR)]

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	住院时间(d)	心率(次/分)	SaO ₂ (%)	SBP(mm Hg)	DBP(mm Hg)
低危组	30	14/16	65.5±10.6	7.5(6.0)	76.0(13.3)	94.4(4.6) ^c	128.0(17.6)	79.0(14.8)
中危组	30	17/13	67.6±9.8	10.0(6.0)	79.0(16.0)	96.1(8.8) ^c	126.0(14.5)	75.0(11.5)
高危组	30	19/11	67.2±12.4	13.0(10.0) ^a	87.5(16.3) ^{ac}	92.9(7.1) ^c	107.0(19.0) ^{abc}	64.0(23.0) ^{ac}
健康组	30	15/15	61.4±7.5	—	78.0(17.0)	99.5(1.0)	124.0(17.0)	78.0(14.5)
$\chi^2/F/H$		2.506	2.347	17.716	14.874	63.482	27.741	12.465
P		0.474	0.760	<0.001	0.020	<0.001	<0.001	0.006

注:—为无数据;与低危组比较,^a $P<0.05$;与中危组比较,^b $P<0.05$;与健康组比较,^c $P<0.05$ 。

2.3 各组血浆游离 mtDNA 水平比较 实时荧光定量 PCR 结果显示,高危组、中危组、低危组、健康组的

血浆游离 mtDNA 水平分别为 10 097 (6 889)、2 983 (3 327)、813(529)、272(199) copies/mL。血浆游离

mtDNA 水平在高危组、中危组、低危组和健康组依次降低,两两比较,差异有统计学意义($P<0.001$)。

2.4 APE 患者血浆游离 mtDNA 水平与其他临床常用指标之间的相关性 双变量 Spearman 秩相关分析结果显示,APE 患者入院第 1 天血浆游离 mtDNA 水平与 WBC、D-D、FDP、cTnT、NT-proBNP 呈正相关($r=0.304$ 、 $P=0.004$; $r=0.446$ 、 $P<0.001$; $r=0.532$ 、 $P<0.001$; $r=0.673$ 、 $P<0.001$; $r=0.666$ 、

$P<0.001$),与 RBC、Hb、RDW、PLT 无相关性($r=-0.037$ 、 $P=0.733$; $r=-0.181$ 、 $P=0.087$; $r=0.087$ 、 $P=0.412$; $r=-0.084$ 、 $P=0.429$)。

2.5 血浆游离 mtDNA 水平及其他临床常用指标对 APE 的诊断效能 血浆游离 mtDNA 诊断 APE 的曲线下面积(AUC)为 0.955, cut-off 值为 557 copies/mL,其灵敏度为 91%,特异度为 90%。见表 4。

表 2 各组血常规及其他临床常用指标比较[M(QR)]

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9$ /L)	RBC($\times 10^{12}$ /L)	Hb(g/L)	RDW(%)	PLT($\times 10^9$ /L)
低危组	30	5.7(1.7)	4.3(0.5) ^c	139.5(18.8)	13.8(1.4)	222.5(83.0)
中危组	30	6.1(2.5)	4.5(0.6)	138.0(18.5)	13.6(1.6)	187.0(114.0)
高危组	30	9.5(8.8) ^{abc}	4.4(1.7) ^c	130.0(52.0) ^c	13.8(2.1)	224.5(259.0)
健康组	30	5.8(1.3)	4.7(1.7)	144.5(15.5)	13.4(1.1)	226.5(54.3)
<i>H</i>		18.245	12.229	15.539	5.984	1.377
<i>P</i>		<0.001	0.007	<0.001	0.112	0.711

注:与低危组比较,^a $P<0.05$;与中危组比较,^b $P<0.05$;与健康组比较,^c $P<0.05$ 。

表 3 各组 D-D、FDP、cTnT、NT-proBNP 水平比较[M(QR)]

组别	<i>n</i>	D-D(mg/L)	FDP(μ g/mL)	cTnT(ng/L)	NT-proBNP(pg/mL)
低危组	30	1.2(0.9)	3.5(3.1)	10.0(0.9)	75.9(55.6)
中危组	30	0.9(1.9)	4.4(3.6)	11.5(5.3)	1 402.0(1 726.7)
高危组	30	4.0(9.2) ^{abc}	11.7(23.8) ^{abc}	28.0(17.0) ^{abc}	1 337.1(4 821.2) ^{ac}
健康组	30	0.4(0.4)	2.5(0.0)	11.0(2.0)	57.9(28.8)
<i>H</i>		57.151	65.978	64.497	78.050
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与低危组比较,^a $P<0.05$;与中危组比较,^b $P<0.05$;与健康组比较,^c $P<0.05$ 。

表 4 不同生物学指标对 APE 的诊断效能

项目	AUC	AUC 的 95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	cut-off 值	约登指数(%)	<i>P</i>
mtDNA	0.955	0.920~0.991	91	90	557 copies/mL	81	<0.001
WBC	0.605	0.503~0.708	53	80	6.65×10^9 /L	33	0.085
D-D	0.824	0.752~0.896	71	97	1.11 mg/L	68	<0.001
FDP	0.867	0.816~0.936	77	93	3.25 μ g/mL	70	0.031
cTnT	0.650	0.553~0.748	46	100	13.27 ng/L	46	0.014
NT-proBNP	0.828	0.756~0.901	70	100	101.43 pg/mL	70	0.037
cTnT+NT-proBNP	0.832	0.760~0.904	74	97	—	71	<0.001

注:—为无数据。

3 讨 论

纵向研究显示,APE 的发病率逐年升高,可能成为威胁人类健康的重要疾病之一^[5-6]。APE 患者的病情严重程度各不相同,表现为从轻微症状到右心功能障碍甚至心源性休克。已有研究表明,不同危险分层的患者预后截然不同,高危组患者病死率较高,预后

差,因此早期识别死亡风险较高的亚组有助于根据疾病的严重程度尽早给予抗凝和溶栓等精准的治疗和重症护理支持,从而降低病死率^[7-8]。肺栓塞的发病机制涉及多个环节,大多数学者认为内皮损伤和炎症在肺栓塞的发生、发展过程中起着重要作用。目前研究发现,APE 患者的肺组织内易出现氧化应激、氧自

由基的增加和缺血再灌注损伤^[9]。mtDNA 是位于线粒体基质中的一个小基因组,对氧化磷酸化(OXPHOS)极为重要。mtDNA 在线粒体基因中的个数被称为 mtDNA 的拷贝数。人体大多数细胞包含 $10^3 \sim 10^4$ copies mtDNA 并保持相对稳定,这对于维持体内平衡非常重要^[10]。研究认为循环 mtDNA 水平是严重创伤后全身炎症反应和肺损伤的潜在生物标志物^[11-12]。迄今为止,mtDNA 已用于肿瘤^[13]、心脑血管疾病^[14]、炎症^[15]、烧伤^[16]等多种危重疾病的研究^[17],但 mtDNA 在 APE 发病过程中的作用在我国目前研究较少,深入研究 mtDNA 在 APE 发生和发展过程中的水平变化及具体作用,不仅可以为寻求新的治疗靶点奠定基础,而且有望成为一种新的生物学标志物用于 APE 的诊断。

本研究对所有受试者肘静脉血采用实时荧光定量 PCR 进行检测,结果显示,APE 患者血浆游离 mtDNA 水平与疾病危险分层关系密切,随着疾病危险分层进展血浆游离 mtDNA 水平逐渐升高。血浆游离 mtDNA 水平在高危组、中危组、低危组和健康组依次降低,两两比较差异有统计学意义($P < 0.001$)。ARNALICH 等^[18]在一项前瞻性队列研究中发现,高危组 APE 患者 mtDNA 和核 DNA(nDNA)水平明显高于非高危组 APE 患者,并且 mtDNA 是 APE 患者死亡的独立预测因子。线粒体作为 OXPHOS 反应中心,可产生大量的氧自由基,并通过细胞凋亡的内在途径导致细胞死亡。由于 mtDNA 缺乏组蛋白的保护,修复能力有限,因此 mtDNA 判断氧化损伤的敏感性约为 nDNA 的 50 倍^[19]。已有研究表明,APE 发生时,由于肺动脉发生栓塞,其支配的肺组织由于血流中断或血流受阻而发生坏死及肺梗死,从而引起大面积的组织缺氧,进而降低线粒体氧的可用性,不仅导致患者 SaO_2 下降,且导致 ATP 快速耗尽^[20]。此时全身再灌注损伤可能引发类似严重败血症的全身炎症反应,导致线粒体的双层膜受损,mtDNA 从受损的细胞中释放,从而检测到 APE 患者血浆游离 mtDNA 水平增加。

FDP 是纤维蛋白(原)降解碎片的总称,其中 D-D 是最常见、最简单的纤维蛋白降解产物,其水平升高表明机体处于血液高凝状态和继发性纤溶系统亢进,在评价血栓性疾病方面具有重要价值^[21]。国外研究发现,高危组 APE 患者血栓负荷程度与 D-D 水平呈正相关,血栓负荷越重,D-D 水平越高^[22]。GEISENBERGER 等^[23]研究发现,APE 患者血浆 D-D 水平越高,越容易发生低血压、休克、心肌肌钙蛋白升高、心功能受损等表现,故认为 D-D 水平可能与 APE 的严重程度有关。血浆 cTnT 和 NT-proBNP 水平升

高与右心室功能障碍相关,已有研究证明上述两项指标对 APE 患者的危险分层及预后具有重要的价值^[24]。在一项大型回顾性队列研究中发现,APE 患者入院时 WBC 水平与 30 d 内病死率有关,当 APE 患者入院 $\text{WBC} > 9.8 \times 10^9/\text{L}$ 时,APE 患者 30 d 内病死率最高,因此 WBC 升高,APE 患者预后较差^[25];LIU 等^[26]研究发现 WBC 水平是中危 APE 患者住院期间不良结局的独立危险因素。本研究发现,高危组血浆中 cTnT、NT-proBNP、D-D、FDP、WBC 水平明显高于低危组和健康组,但在诊断 APE 时,mtDNA 的灵敏度高于 cTnT、NT-proBNP、D-D、FDP、WBC、cTnT+NT-proBNP。同时本研究还发现 APE 患者血浆游离 mtDNA 水平与 WBC、D-D、FDP、cTnT、NT-proBNP 呈正相关($r = 0.304, 0.446, 0.532, 0.673, 0.666, P < 0.05$),这一结果表明血浆游离 mtDNA 水平同 WBC、D-D、FDP、cTnT、NT-proBNP 一样与 APE 疾病密切相关。采用 ROC 曲线评估 mtDNA 和临床常用指标对 APE 的诊断价值,结果显示血浆游离 mtDNA 诊断 APE 的 AUC 为 0.955, cut-off 值为 557 copies/mL,其灵敏度为 91%,特异度为 90%;在 APE 诊断方面,血浆 mtDNA 显示出比其他临床常用指标更好的辨别力。因此,mtDNA 在诊断 APE 时,具有较高的灵敏度与特异度,可以成为 APE 诊断的一种新型生物标志物。

当然,本研究仍存在不足之处。本研究为单中心研究,样本量较少,可能存在偏倚等误差,需要在今后的实验中进行多中心、大样本量研究;血浆 mtDNA 的过度积累部分原因可能归因于清除能力降低,但目前其清除机制尚不清楚,还需要进一步的研究来了解肾功能和肝功能受损患者血浆游离 mtDNA 降低的机制。随着分子生物学的不断发展,新型冠状病毒感染疫情加速了基层 PCR 实验室的建成,经过对 PCR 技术人员的大量培训,PCR 技术更加成熟。因此,有望将 mtDNA 作为一项常规生物学指标,对疾病做出精准的评估。

综上所述,APE 患者血浆游离 mtDNA 水平升高,并与疾病危险分层严重程度有关;血浆游离 mtDNA 水平检测有助于诊断 APE,mtDNA 也可作为预测 APE 病情严重程度的一种标志物。

参考文献

- [1] KAHN S R, DE WIT K. Pulmonary embolism[J]. N Engl J Med, 2022, 387(1): 45-57.
- [2] 韩志莹, 王建国, 张娇. 肺血栓栓塞面积与凝血功能指标的相关性分析[J]. 医学综述, 2021, 27(2): 409-412.
- [3] GRABUSCHNIG S, BRONKHORST A J, HOLDENRIEDER S, et al. Putative origins of cell-free DNA in hu-

- mans; a review of active and passive nucleic acid release mechanisms[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21):8062.
- [4] KONSTANTINIDES S V, MEYER G, BECATTINI C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS)[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(4):543-603.
- [5] MARTINEZ L C, MCCURDY C M, MALDONADO S M, et al. Current management of acute pulmonary embolism[J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 26(2):65-71.
- [6] 安海玲. NLR、PLR 与急性肺血栓栓塞症危险分层的相关性分析[D]. 银川:宁夏医科大学, 2022.
- [7] KONSTANTINIDES S V, MEYER G, BECATTINI C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): the task force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC)[J]. *Eur Respir J*, 2019, 54(3):1901647.
- [8] OSPEL J M, HOLODINSKY J K, GOYAL M. Management of acute ischemic stroke due to large-vessel occlusion: JACC Focus Seminar[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(15):1832-1843.
- [9] ZHANG J, ZHU Y, WU Y, et al. Synergistic effects of EMPs and PMPs on pulmonary vascular leakage and lung injury after ischemia/reperfusion[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1):184.
- [10] ROBIN E D, WONG R. Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells[J]. *J Cell Physiol*, 1988, 136(3):507-513.
- [11] GAN L, ZHONG J, ZHANG R, et al. The immediate intramedullary nailing surgery increased the mitochondrial dna release that aggravated systemic inflammatory response and lung injury induced by elderly hip fracture[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:587378.
- [12] HERNANDEZ-BEEFTINK T, GUILLEN-GUIO B, RODRIGUEZ-PEREZ H, et al. Whole-Blood Mitochondrial DNA copies are associated with the prognosis of acute respiratory distress syndrome after sepsis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:737369.
- [13] 李梦颖. 外周血线粒体 DNA 拷贝数与消化道恶性肿瘤发生风险的病例队列研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2021.
- [14] 鲁召辉, 宋红星, 马飞龙, 等. 外周循环线粒体 DNA 拷贝数与急性心肌梗死患者近期预后的相关性研究[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2022, 14(10):1190-1194.
- [15] 梁转霞. 急性胰腺炎患者血浆游离线粒体 DNA 定量检测及其临床意义[D]. 太原:山西医科大学, 2020.
- [16] 项小凤, 王健祯, 杨泽华. 血浆游离线粒体 DNA 拷贝数与烧伤患者病情的相关性[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2021, 59(11):61-66.
- [17] FILOGRANA R, MENNUNI M, ALSINA D, et al. Mitochondrial DNA copy number in human disease: the more the better? [J]. *FEBS Lett*, 2021, 595(8):976-1002.
- [18] ARNALICH F, MALDIFASSI M C, CIRIA E, et al. Plasma levels of mitochondrial and nuclear DNA in patients with massive pulmonary embolism in the emergency department: a prospective cohort study[J]. *Crit Care*, 2013, 17(3):R90.
- [19] BINGHAM N, SPENCER A. The role of cell free DNA and liquid biopsies in haematological conditions[J]. *Cancer Drug Resist*, 2020, 3(3):521-531.
- [20] 邝晶, 王灵聪. 肺栓塞病因及栓塞后病理机制研究进展[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2017, 27(7):632-636.
- [21] FALSTER C, ANDERSEN N H. Diagnostic accuracy of fibrin D-dimer [J]. *Ugeskr Laeger*, 2022, 184(28):V01220074.
- [22] KELLER K, BEULE J, BALZER J O, et al. D-Dimer and thrombus burden in acute pulmonary embolism[J]. *Am J Emerg Med*, 2018, 36(9):1613-1618.
- [23] GEISSENBERGER F, SCHWARZ F, PROBST M, et al. D-Dimer predicts disease severity but not long-term prognosis in acute pulmonary embolism [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2019, 25:10760296198631095.
- [24] SEROPIAN I M, CHIABRANDO J G, DAMONTE J I, et al. Prognosis of patients with acute pulmonary embolism and discordant right ventricle strain serum biomarkers[J]. *Int J Cardiol*, 2021, 340:88-93.
- [25] VENETZ C, LABARERE J, JIMENEZ D, et al. White blood cell count and mortality in patients with acute pulmonary embolism[J]. *Am J Hematol*, 2013, 88(8):677-681.
- [26] LIU J, LIU Y, ZHANG F, et al. Short-term prognostic value of clinical data in hospitalized patients with intermediate-risk acute pulmonary embolism[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2022, 22(1):335.

(收稿日期:2023-03-06 修回日期:2023-05-10)