

神经病学领域循环游离DNA研究的分析前因素研究进展

应超 赵立芳 蔡燕宁

100053 北京,首都医科大学宣武医院神经生物学研究室(应超、蔡燕宁); 100053 北京市老年病医疗研究中心(应超、蔡燕宁); 100053 北京,教育部神经变性病重点实验室(应超、蔡燕宁); 100053 北京,国家老年疾病临床医学研究中心(应超、蔡燕宁); 100053 北京,首都医科大学宣武医院中心实验室(赵立芳、蔡燕宁)

通信作者: 赵立芳, Email: lfzhao2021@163.com; 蔡燕宁, Email: yanningcaimailbox@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2024.11.008

【摘要】 目前,以神经系统疾病为重点的临床专科对非侵入性、敏感度和特异度高的检测方法的需求尚未得到充分满足。循环游离DNA(cfDNA)是一种具有潜在临床价值的生物标志物,因其携带了丰富的诊断和预后信息,在神经病学领域得到了广泛应用。但由于各研究机构之间缺乏统一的、标准化的cfDNA分析操作程序,导致cfDNA在临床实践中的应用仍受到一定限制。本综述通过系统性讨论影响cfDNA质量和产量的分析前因素,旨在为cfDNA在神经病学的临床实践中的具体应用提供参考。

【关键词】 神经病学; 循环游离DNA; 分析前因素; 综述

基金项目: 科技创新2030-“脑科学与类脑研究”重大项目(2021ZD0201101); 国家重点研发计划(2021YFC2501205)

Pre-analytical factors for the study of circulating cell-free DNA in the field of neurology Ying Chao, Zhao Lifang, Cai Yanning

Department of Neurobiology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China (Ying C, Cai YN); Beijing Research Center of Geriatric Disease, Beijing 100053, China (Ying C, Cai YN); Key Laboratory of Neurodegenerative Disease, Ministry of Education, Beijing 100053, China (Ying C, Cai YN); National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Beijing 100053, China (Ying C, Cai YN); Central Laboratory, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China (Zhao LF, Cai YN)

Corresponding authors: Zhao Lifang, Email: lfzhao2021@163.com; Cai Yanning, Email: yanningcaimailbox@163.com

【Abstract】 Currently, the clinical specialties focused on neurological disorders have not fully met the demand for non-invasive detection methods with high sensitivity and specificity. Circulating cell-free DNA (cfDNA) is a biomarker with significant potential clinical value, as it carries extensive diagnostic and prognostic information, and has been widely applied in the field of neurology. However, the lack of standardized cfDNA analysis protocols among different research institutions has constrained its application in clinical practice. This review aims to systematically discuss the pre-analytical factors that influence cfDNA quality and yield, providing a reference for the specific application of cfDNA in clinical neurology.

【Key words】 Neurology; Circulating cell-free DNA; Pre-analytical factors; Review

Fund programs: Science and Technology Innovation 2030 - Major Project on 'Brain Science and Brain-like Research' (2021ZD0201101); National Key Research and Development Program (2021YFC2501205)

神经系统疾病是全球公共健康的重大威胁之一,每年影响全球多达10亿人,导致约680万人死亡^[1]。由于缺乏特定临床表现以及血脑屏障的存在,神经系统疾病的诊断通常具有挑战性^[2]。传统的诊断方法,如腰椎穿刺和组织活检,因为其侵入性、可能造成的病人痛苦以及潜在的危险性,使得诊断和检

查过程变得更加困难^[3]。多数神经系统疾病可能导致残疾,因此快速准确的诊断对挽救患者生命至关重要。已有研究报道了循环游离DNA(circulating cell-free DNA, cfDNA)作为神经病学领域非侵入性生物标志物的潜在用途^[4]。cfDNA是指循环血液中游离于细胞外的DNA,源自核基因组DNA(cell-free

nuclear DNA, cf-nDNA) 和线粒体基因组DNA (cell-free mitochondrial DNA, cf-mtDNA), 通常携带疾病诊断和预后特异的分子信息, 如DNA突变、拷贝数变异和甲基化等^[5-6]。cfDNA的产生和清除是一个动态过程, 其半衰期为5~150 min, 这种“全局快照”能力使其成为许多难以进行组织活检疾病的候选生物标志物^[7]。

尽管近年来基于cfDNA分析的检测手段快速应用, 但其在临床实践中的广泛应用仍面临挑战。首先, 临床实践中血浆使用量有限, 加上cfDNA的碎片化特征, 导致其在血液中的浓度极低^[8]。其次, cfDNA可能受个体差异和生理状态的影响, 如运动及慢性炎症等, 增加了测量和解释的复杂性^[9]。此外, 当前cfDNA研究主要集中在癌症早筛、预后监测、移植排斥反应和产前诊断等领域, 对于神经系统疾病, cfDNA的应用研究较少, 需进一步探索和验证^[10]。最重要的是, cfDNA检测的敏感度和特异度高度依赖于样本质量和处理方法。不同实验室之间的标准化操作尚未完全建立, 这可能导致结果的重复性和可比性较差, 给比较研究带来困难, 削弱了cfDNA作为标志物的应用价值^[11]。在深入了解cfDNA分析前影响因素的基础上, 收集、存储和检测生物样本的标准操作流程至关重要。一些分析前步骤(如采血管的类型、离心条件、长期储存温度和持续时间、生物样本类型的选择以及cfDNA提取与定量方法等)会影响cfDNA浓度、完整性和甲基化特征等下游分析结果, 使研究结果并非完全由实验或真实的生物学差异所决定^[12]。因此, 迫切需要建立一套可广泛应用于cfDNA分析的分析前阶段标准操作程序^[13]。本综述基于已发表的证据, 全面探讨了不同分析前因素对cfDNA分析的影响, 旨在为cfDNA在神经病学的临床实践中的具体应用提供参考, 以促进该领域的研究和临床实践的发展。

一、影响cfDNA的分析前因素

(一) 生活方式和生物因素

在进行样本采集前, 应全面考虑受试者的生活方式和生物因素对cfDNA水平可能产生的影响。一般而言, “生活方式”指个人选择的外部变量, “生物因素”则指内在的生理变量。研究表明, 受试者的饮食习惯和月经情况对血浆cfDNA水平影响可忽略, 但其他生物因素和生活方式可能会改变cfDNA水平, 这些因素可能包括但不限于年龄、性别、吸烟、慢性炎症、认知损伤、药物使用以及环境暴露等^[9, 14-16]。值得注意的是, 多项研究发现运动期间

cfDNA水平显著提升, 并且与运动的强度和持续时间呈相关性。随着运动的停止, cfDNA水平会逐渐下降至运动前的水平。通常情况下, 运动后体内的cfDNA在短时间内(0.5~1 h)恢复到基线水平; 然而, 剧烈运动可能导致下降速度较慢, 同时cfDNA水平在48 h内持续出现可测量的增加, 这种增加可能与中性粒细胞的释放有关^[17-20]。因此, 在采血前应限制受试者的体力活动, 或在研究中详细说明是否控制了这些混杂因素。

(二) 生物样本类型的选择

血清和血浆的选择在标准化cfDNA分析中至关重要。一些研究对血浆和血清样本中cfDNA浓度进行了比较, 结果显示血清中的cfDNA浓度是血浆的3~24倍^[21-22]。虽然血清中可能含有更多的cfDNA, 但其产量不稳定, DNA提取的质量可能受到单核细胞和其他血细胞形成血栓后裂解产生的额外非循环(基因组来源)DNA的影响^[23-24]。因此, 血清中的cfDNA可能受到白细胞释放的基因组DNA污染, 一定程度地导致目标基因被高水平的非特异性基因组DNA稀释, 这也导致血清中的cfDNA片段长度明显大于血浆中的cfDNA^[25], 且其完整性指标更高^[26-27]。此外, 与cfDNA相关的囊泡能够与纤维蛋白和纤维蛋白原结合。在制备血清的过程中, 去除纤维蛋白和纤维蛋白原可能会导致关键囊泡和cfDNA的丢失^[28]。考虑到血浆样本制备过程中较小的变异性和较低的白细胞污染可能性, 选择血浆作为生物样本可以最大限度地提高cfDNA的检测敏感度和数据的均质性^[29]。因此, 大多数研究建议在分析cfDNA时优先选择血浆样本, 特别是在进行基因突变分析时^[30-31]。此外, 有研究团队明确证明血浆是更好的肿瘤cfDNA的来源^[32]。尽管研究表明血浆是首选的cfDNA来源, 但与cfDNA相关的临床研究仍主要基于血清样本, 尤其是在使用生物样本库中储存的样本进行回顾性研究时^[33]。然而, 这并不改变血浆作为cfDNA相关临床研究首选材料的结论。

(三) 血液的采集及保存

1. 抗凝剂以及采血管。乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、枸橼酸钠和肝素是采血管中常用的抗凝剂。研究表明, EDTA是最适合用于cfDNA研究的抗凝剂之一。这是因为肝素可能会影响聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)的扩增效率, 而PCR技术广泛应用于cfDNA研究^[34]。此外, 肝素不会抑制核酸内切酶的活性, 可能导致cfDNA的降解, 而EDTA则是核酸内切酶的

抑制剂^[35]。因此, EDTA 优于肝素, 因为其可以确保 cfDNA 的稳定性长达 6 h^[36]。Cell free DNA 采血管是专门用于 cfDNA 研究的一种特殊采血管。管内含有防腐剂, 可以防止血细胞释放基因组 DNA 以及其他成分的污染, 并且有助于抑制 cfDNA 的降解, 从而提高 cfDNA 的整体稳定性^[37-38]。研究表明, 在血样被立即处理(即在抽血和 cfDNA 提取之间的 6 h 内)的情况下, 使用 EDTA 采血管和 cell free DNA 采血管采集的 cfDNA 浓度没有明显差异, 具有相当的稳定性^[37, 39]。在血液处理延迟的情况下, 使用更昂贵的 cell free DNA 采血管采集的血液在存储 2 ~ 14 d 后显示出比使用 EDTA 采血管更稳定的血浆 cfDNA 浓度, 具有更长时间的稳定性^[40-41]。尽管使用不同的抗凝剂不太可能导致甲基化状态发生显著差异, 且鲜有报道从 EDTA 和肝素管收集的血液中分离的 DNA 存在甲基化变异^[42], 但是使用 EDTA 抗凝管更安全, 可以防止白细胞裂解。

2. 血液样本的保存。理想情况下, 应尽快从血液中分离出血浆, 但在临床环境中可能无法快速处理血液, 需要延迟分离血浆。血液采集后的存储时间和温度是广泛关注的两个关键参数^[43-44]。关于血液离体后 cfDNA 浓度突然上升的时间点仍存在争议。研究表明, 2 h 内对血液进行处理与新鲜血液相比, 其 cfDNA 浓度无显著变化, 但延迟处理超过 4 h 以上的血液, 其 cfDNA 浓度显著增加^[45]。后续研究发现, 血液在延迟 6、8、16 h 甚至 24 h 分离后, cfDNA 浓度才显著升高^[46-48]。此外, 长时间(6 h 以上)储存会导致 cfDNA 完整性轻微下降, 提示 cfDNA 可能会变得更加片段化^[33]。因此, 在使用 EDTA 抗凝管采集血液时, 无论是在室温还是 4℃ 存储条件下, 应尽早(2 ~ 6 h)制备血浆, 以避免基因组 DNA 污染。如果必须延迟血浆分离, 可在 4℃ 条件下将血液存储在于 EDTA 采集管中 1 ~ 3 d, 或使用 cell free DNA 采血管进行采集^[30, 35]。血液 4℃ 保存适用于 cf-nDNA 相关实验分析, 对于 cf-mtDNA 检测则应避免, 因为温度应激会激活血小板并导致 mtDNA 释放^[49]。此外, 4℃ 储存 1 ~ 3 d 的 EDTA 抗凝管适用于突变检测, 但不适用于甲基化分析^[30, 50]。另外, 长时间储存或高温下储存, 如在 DNA 提取前将血液在室温甚至 4℃ 下储存超过 24 h, 可能会对 DNA 的产量和质量产生不利影响^[51-52]。

(四) 血浆的制备及保存

1. 离心方案。cfDNA 分析的绝对先决条件是血浆必须完全不含有细胞成分, 以避免基因组 DNA 污

染 cfDNA。已发表的研究通常使用两步离心法将血浆与血细胞分离, 首先以缓慢低速离心(1 600 g) 10 min, 将血浆与血细胞分离, 以避免细胞溶解和不必要的基因组 DNA 释放; 然后将血浆上清液转移到一个新的试管中, 再次高速离心(16 000 g) 10 min, 以去除剩余的细胞残留物, 形成无细胞血浆^[13, 33]。仅通过单次离心步骤获得的血浆中仍含有基因组 DNA 成分。Van Ginkel 等^[53]发现, 与单次低速离心 [72.0 (22.3 ~ 156.5)copies/ μ l] 相比, 两步离心后血浆 cfDNA 浓度显著降低至 [27.7(15.0 ~ 42.3)copies/ μ l], 表明细胞残留释放基因组 DNA 到样本中。因此, 需要第 2 次离心进行血浆过滤, 防止细胞 DNA 污染, 并提高 cfDNA 均一性和纯度^[13]。两步离心的设计之所以可行, 是因为细胞裂解释放到血浆中的核 DNA 通常以核小体的形式存在, 高速离心可以使核小体与血浆分离。研究显示, 经过一次低速离心后获得的血浆在 -20℃ 或 -80℃ 条件下储存后, 经过第 2 次高速离心可以将核小体与血浆分离, 制备无细胞血浆, 提示既往通过常规低速离心制备的血浆样本也可能适用于 cfDNA 的后续研究^[54]。因此, 推荐使用两步离心法处理血液, 以获得合格的血浆样本用于后续 cfDNA 研究。此外, 第 2 次离心步骤可以在血浆样品储存 -20℃ 或 -80℃ 之前或之后进行。需要额外注意的是, 第二步的高速离心不会影响血浆 cf-nDNA 含量(损失约 8.6%), 但会导致 cf-mtDNA 的显著降低(损失约 75.7%)。因此, 在今后 cf-mtDNA 相关研究中应慎重考虑这一方面^[55]。

2. 血浆质检。血液的质控在实验室医学中至关重要, 应尽可能识别出溶血、脂血、乳糜血、黄疸等特殊血液状态, 并将其排除在进一步分析之外^[46]。溶血是最常见的前分析错误, 其发生频率是第 2 常见的原因(标本量不足)的 6 倍^[56]。任何溶血都可能导致血浆呈粉红或红色, 导致抑制物额外释放, 干扰 cfDNA 的下游分析^[57]。在日常实验中, 可以通过直观地与典型的溶血标本进行比较判断样本是否存在溶血^[58], 但有时肉眼无法检测到溶血, 细胞内成分也可能会排放到血浆中。因此, 可以通过定量方式发现溶血情况。具体而言, 如果游离血红蛋白浓度高于 300 mg/L, 则溶血是肉眼可见; 而低于该浓度的游离血红蛋白则通过免疫比浊法或双波长分光光度法定量测定。通常, 血浆中游离血红蛋白的参考上限为 20 mg/L; 血清中游离血红蛋白的参考上限为 50 mg/L^[59]。血液采集过程中, 导致溶血的各种因素包括针头规格、采血位置、激烈颠倒、采血管未

充满、采血速度过快或使用过期的采集管等^[30, 60],可能会导致裂解的细胞在血液中释放其DNA。这些基因组DNA会增加野生型DNA的背景,降低有效突变等位基因频率,使得罕见突变的检测更加困难^[7]。此外,黄疸血浆通常呈极度淡黄或淡绿色,这是由高浓度的胆红素引起。从黄疸血浆中提取的cfDNA同样会对PCR反应产生强烈干扰^[61],从脂蛋白含量高的样本(呈不透明或乳白色)提取的cfDNA浓度显著降低^[14]。建议由接受过标准化静脉采血培训的护士执行血液采集工作,并在离心后监测血浆颜色。除非无法替代,应拒绝溶血、黄疸和乳糜样本^[62-63]。

3. 血浆的冻融次数及保存。血浆应在冷冻条件下保存以减少核酸酶活性,但频繁冻融和长期储存会导致cfDNA降解^[64-66],应采取预防措施以避免储存期间cfDNA碎片化^[67-68]。频繁冻融血浆会通过碎裂损失cfDNA。Chan等^[26]发现,进行3次冻融后,血浆cfDNA完整性显著下降,表明频繁冻融可能导致cfDNA碎片化,而仅冻融1次的样本未出现此现象。这一发现得到了Thierry小组的证实,其建议血浆最多冻融2次^[33]。避免多次冻融的方法之一是将血浆样本分装至目标体积,并存储于-20℃或-80℃以保持样本在储存期间的质量^[46]。尽管有关cfDNA纯化前血浆最佳存储时间的研究有限,但这对于合理规划库存生物样本的回顾性研究至关重要。因此,在计划执行涉及血浆cfDNA分析的前瞻性临床试验时,或当储存的血浆被用于cfDNA生物标志物检测的回顾性分析时,应考虑到这一因素。已有研究证明,血浆在-80℃存储2周或-20℃存储4周对血浆cfDNA浓度无明显影响^[26, 31];或3个月内,-20℃储存的血浆cfDNA的绝对DNA含量无变化^[69]。但是,血浆在-80℃长期储存后,cfDNA浓度会显著降解,平均每年下降约30.7%^[64]。然而,储存时间可能对cfDNA中特定序列或突变的检出影响较小,因为突变可以在保存6年的冷冻血浆样本中检测到^[46, 70]。尽管已有研究比较了不同存储时间的cfDNA含量变化,但最佳血浆存储周期仍无定论。但可以明确的是,cfDNA数量随存储时间延长而减少。理想条件下,在获得血浆后应立即进行cfDNA纯化,或存储于-80℃条件下,并在2周内纯化。总体而言,血浆长期存储时间取决于临床和分析目标。若实验目的与cfDNA浓度和片段分析相关,则建议对-20℃储存3个月或-80℃储存9个月以内的血浆进行纯化。对于特定DNA序列的检测,血浆可在-20℃或-80℃下保存9个月,最长可在-80℃保存10年。然而,长时间储存可能影响其敏感性,导致特定序列数量减少^[11, 71]。

(五)cfDNA的纯化与保存

1. 纯化试剂盒的选择。cfDNA的低浓度增加了其纯化的难度。理想的cfDNA纯化方法应经济有效,对所有cfDNA片段进行同等效率的纯化,同时最大化产量并最小化抑制物的影响。大多数研究使用专门设计的商业试剂盒纯化cfDNA,例如常用的硅胶柱法试剂盒包括QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit、Quick-cfDNA Serum & Plasma Kit以及QIAamp MinElute cfDNA Mini Kit。硅胶柱法利用核酸在高盐条件下与硅胶膜结合,然后在低盐、高pH值条件下洗脱,通过多次离心和转移收集核酸。其优点包括操作简单、重复性好,适用于处理大量样本;缺点是样品损失较高,尤其是低浓度的cfDNA。此外,常用的磁珠法试剂盒包括MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit、VAHTS Serum/Plasma Circulating DNA Kit以及MAGicBead cfDNA Isolation Kit。磁珠法利用超顺磁纳米硅磁珠在盐溶液条件下特异性吸附游离核酸,然后在低盐条件下洗脱。其优点包括高回收率、处理时间短、易于自动化;缺点是成本较高,并且在某些情况下可能存在残留磁珠影响后续实验的风险。此外,一些研究使用非专用的cfDNA纯化试剂盒,如QIAamp DNA Blood Mini Kit和MagNA Pure LC DNA Isolation Kit-Large Volume,但可能导致cfDNA产量显著降低^[72]。另外,一些研究采用了各种内部方案^[73-74]。尽管有众多商业试剂盒可供选择,但多数研究认为QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit是cfDNA纯化的金标准^[75]。不同的cfDNA纯化方法和试剂盒选择可能会影响诊断参数,特别是cfDNA浓度、片段大小和甲基化修饰等^[62, 76-77]。Warton等^[78]比较发现,QIAamp DNA Blood Mini Kit回收的cfDNA数量仅为QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit的1/3。QIAamp DNA Blood Mini Kit回收的cfDNA数量较少,可能与其偏好回收大片段DNA(> 200 bp)有关^[79]。此外,Clausen等^[80]的研究发现,QIAamp DSP Virus Kit的产量超过QIAamp DNA Blood Mini Kit,可能是因为前者专为病毒DNA设计,有利于提取小片段DNA。此外,随着血浆体积的增加,cfDNA提取效率可能增加^[81]或减少^[72]。低起始量可能与试剂盒要求有关,例如QIAamp DNA Blood Mini Kit指定最多200 μl的起始量。传统的cfDNA甲基化检测技术通常需要大量血液样本,在亚硫酸氢盐转化过程中可能会丢失部分cfDNA^[82]。综上所述,选择适当的cfDNA纯化试剂盒至关重要,因为其不仅直接影响cfDNA的回收率和纯度,还可能对后续的

分析和诊断结果产生显著影响。研究人员应根据具体研究需求,综合考虑试剂盒的特性、样本量要求、纯化效率以及成本效益,选择最合适的纯化方法,以确保获得高质量的cfDNA样本,从而提高下游分析的准确性和可靠性。

2. cfDNA冻融次数和保存。大多数cfDNA相关研究是回顾性的,可能需要长期储存样本进行分析,因此有必要研究和比较长期储存对cfDNA样本质量的影响。然而,很少有研究考虑cfDNA的储存条件,因此现有研究结论存在较大差异。DNA通常会随着储存时间延长和反复冻融次数增加而片段化,而cfDNA由于高度片段化的特征可能更容易降解,这可能会影响定量和检测效果,甚至导致阴性结果,尤其是在使用定量聚合酶链式反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)进行定量分析时^[65, 83]。因此,应采取预防措施减少储存过程中可能发生的DNA降解现象^[67-68]。有趣的是,与血浆中的cfDNA不同,经过3次冻融后,纯化后的cfDNA仍能保持其完整性和浓度,表明其受反复冻融的影响较小^[71, 84]。另一方面,Sozzi等^[64]发现,存放在-20℃条件下的cfDNA水平在两次评估之间(中位间隔为41个月)平均每年下降约30.5%。此外,Sato等^[68]发现,与基线期新鲜提取的cfDNA相比,将cfDNA或血浆分别存放在-20℃或者-80℃长达7年之后,其表皮生长因子受体的突变频率分别减少了20%~25%或35%~40%,表明纯化后cfDNA较储存在血浆中cfDNA更稳定。此外,Kerachian等^[30]认为将cfDNA在-20℃下保存超过1年可能会对DNA甲基化产生不利影响。总之,为了定量和片段分析目的,建议在-20℃下保存不超过3个月,而对于突变分析,cfDNA提取物在-20℃或-80℃下保存9个月后可使用^[71]。

(六)cfDNA的简单定量

cfDNA具有广泛的应用,其分析方法因分析目的而异。qPCR是目前最常用的cfDNA定量方法,而分光光度法和荧光测定法主要用于简单定量,这些方法经济、快速且简单。简单定量是cfDNA的最终分析方法,通常不依赖于序列。cfDNA的简单定量包括基于分光光度法(NanoDrop)和荧光测定法(PicoGreen以及Qubit),其原理不同,各有优缺点。分光光度法通过测量不同波长光的强度评估化学物质的吸收程度,尽管可能存在信号重叠和浓度过高估计的问题,但该方法有助于评估样品的纯度。分光光度法通常具有很广的浓度动态范围(如

NanoDrop可测量的浓度为0.4~15 000 ng/ μ l),但低浓度cfDNA和有机溶剂残留可能导致定量分析低于检测下限^[85]。鉴于简单性、分析时间和成本,分光光度测量较其他定量方法更便宜且高效^[86];另一方面,荧光测定法是首选分析低浓度cfDNA样本的方法^[87],基于荧光测定的方法利用荧光染料等结合分子对DNA或RNA的特异结合进行检测^[88]。与分光光度法相比,荧光测定法不太方便检测污染物,但也不容易因污染物导致浓度估计过高。荧光测定法对低浓度cfDNA具有高敏感度,可用于不同浓度范围(从pg到ng/ μ l)和不同类型DNA核酸的测定^[89]。与基于qPCR的定量技术相比,Qubit检测法得出的数值略高且范围更广,这可能是由于该方法估计过高,尤其是在定量极限处^[79],或者是由于在纯化过程中存在carrier-RNA^[75]。需要注意的是,qPCR容易出现过度估计的问题。一些试剂盒对特定DNA片段大小有偏好^[90],同时许多研究使用qPCR方法定量cfDNA浓度^[79, 91]。然而,由于qPCR定量严格取决于扩增子的大小,其引物倾向于结合更长、更完整的DNA序列,因此存在引入偏差的风险^[92]。此外,有研究发现,NanoDrop测量的cfDNA浓度与ddPCR定量结果无相关性($R^2=0.002$, $P=0.81$),但Qubit定量测量与ddPCR结果显著相关($R^2=0.96$, $P<0.0001$)^[53]。类似地,Ramachandran等^[93]也发现qPCR定量的cfDNA浓度与PicoGreen测量的cfDNA水平呈显著正相关($R^2=0.855$, $P<0.0001$),但与分光光度法测定的cfDNA水平相关性较弱($R^2=0.227$, $P=0.0004$)。因此,建议在进行PCR分析前,先使用Qubit荧光测量对cfDNA进行初步检测。

二、总结与展望

快速发展的cfDNA检测为多种神经系统疾病提供了通过液体活检增强诊断、预后和治疗能力的机会。因其具有无创性、携带疾病信息和半衰期短等特征,在神经病学、肿瘤学和自身免疫性疾病等领域得到广泛关注。与肿瘤学领域不同,许多神经系统疾病并不以DNA序列改变为特征。因此,在神经疾病领域,基于cfDNA的分析指标主要包括cf-nDNA浓度、甲基化水平、cf-mtDNA拷贝数以及缺失水平等^[94]。实验室检测过程中的每个步骤,从检测项目的选择到结果的解释,都可能导致不当的医疗决策。cfDNA分析前因素涉及多个步骤,从血液采集到cfDNA定量,存在许多混杂难以确定的混杂变量,并缺乏预设的质量控制标准或共识。每个步骤的变化都可能导致研究结果出现偏差,掩

盖 cfDNA 信号与疾病临床表现的真正关系,从而阻碍 cfDNA 生物标志物在临床诊断实践中的应用。cfDNA 在神经疾病液体活检中的未来发展取决于对特定疾病相关遗传和表观遗传模式的识别、检测和分析的进一步发展^[4]。当前各研究小组之间缺乏协调,不可避免地会偏离和修改内部协议,这限制了不同研究之间的比较,导致最终结果难以解释^[46]。因此,需要优化临床 cfDNA 检测工作流程方法,确保不同研究小组和机构就最佳分析前步骤达成共识,建立广泛应用的标准,以实现 cfDNA 测量的重复性和准确性。随着这一领域的持续发展,针对血液中信息丰富的 cfDNA 图谱的液体活检将成为临床医生诊断和治疗神经疾病患者的重要工具。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 构思设计、资料收集、论文撰写为应超,论文修订为应超、赵立芳,蔡燕宁审校

参 考 文 献

- [1] Ningrum D, Kung WM. Challenges and perspectives of neurological disorders[J]. *Brain Sci*, 2023, 13(4): 676. DOI: 10.3390/brainsci13040676.
- [2] Mayo S, Benito-León J, Peña-Bautista C, et al. Recent evidence in epigenomics and proteomics biomarkers for early and minimally invasive diagnosis of Alzheimer's and Parkinson's diseases[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2021, 19(8): 1273-1303. DOI: 10.2174/1570159X19666201223154009.
- [3] Sheinerman KS, Umansky SR. Circulating cell-free microRNA as biomarkers for screening, diagnosis and monitoring of neurodegenerative diseases and other neurologic pathologies[J]. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 150. DOI: 10.3389/fncel.2013.00150.
- [4] Gaitsch H, Franklin R, Reich DS. Cell-free DNA-based liquid biopsies in neurology[J]. *Brain*, 2023, 146(5): 1758-1774. DOI: 10.1093/brain/awac438.
- [5] Keller L, Belloum Y, Wikman H, et al. Clinical relevance of blood-based ctDNA analysis: mutation detection and beyond[J]. *Brit J Cancer*, 2021, 124(2): 345-358. DOI: 10.1038/s41416-020-01047-5.
- [6] Hashimoto T, Yoshida K, Hashiramoto A, et al. Cell-free DNA in rheumatoid arthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8941. DOI: 10.3390/ijms22168941.
- [7] Song P, Wu LR, Yan YH, et al. Limitations and opportunities of technologies for the analysis of cell-free DNA in cancer diagnostics[J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(3): 232-245. DOI: 10.1038/s41551-021-00837-3.
- [8] Li K, Dai M, Sacirovic M, et al. Leukocyte telomere length and mitochondrial DNA copy number associate with endothelial function in aging-related cardiovascular disease[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10: 1157571. DOI: 10.3389/fcvm.2023.1157571.
- [9] Yuwono NL, Warton K, Ford CE. The influence of biological and lifestyle factors on circulating cell-free DNA in blood plasma[J]. *Elife*, 2021, 10: e69679. DOI: 10.7554/eLife.69679.
- [10] Bruno D, Donatti A, Martin M, et al. Circulating nucleic acids in the plasma and serum as potential biomarkers in neurological disorders[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2020, 53(10): e9881. DOI: 10.1590/1414-431x20209881.
- [11] Meddeb R, Pisareva E, Thierry AR. Guidelines for the preanalytical conditions for analyzing circulating cell-free DNA[J]. *Clin Chem*, 2019, 65(5): 623-633. DOI: 10.1373/clinchem.2018.298323.
- [12] Lee JE, Kim YY. Impact of preanalytical variations in blood-derived biospecimens on omics studies: toward precision biobanking[J]. *OMICS*, 2017, 21(9): 499-508. DOI: 10.1089/omi.2017.0109.
- [13] Chiu RW, Poon LL, Lau TK, et al. Effects of blood-processing protocols on fetal and total DNA quantification in maternal plasma[J]. *Clin Chem*, 2001, 47(9): 1607-1613.
- [14] Meddeb R, Dache Z, Thezenas S, et al. Quantifying circulating cell-free DNA in humans[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5220. DOI: 10.1038/s41598-019-41593-4.
- [15] Bae JH, Jo SI, Kim SJ, et al. Circulating cell-free mtDNA contributes to AIM2 inflammasome-mediated chronic inflammation in patients with type 2 diabetes[J]. *Cells*, 2019, 8(4): 328. DOI: 10.3390/cells8040328.
- [16] Kamal MM, Abdelaziz AO, El-Baz HN, et al. Plasma cell-free DNA integrity index and hepatocellular carcinoma treated or not with direct-acting antivirals: a case-control study[J]. *Arab J Gastroenterol*, 2022, 23(1): 39-44. DOI: 10.1016/j.ajg.2021.12.006.
- [17] Atamaniuk J, Vidotto C, Kinzlbauer M, et al. Cell-free plasma DNA and purine nucleotide degradation markers following weightlifting exercise[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2010, 110(4): 695-701. DOI: 10.1007/s00421-010-1532-5.
- [18] Mavropalias G, Calapre L, Morici M, et al. Changes in plasma hydroxyproline and plasma cell-free DNA concentrations after higher- versus lower-intensity eccentric cycling[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2021, 121(4): 1087-1097. DOI: 10.1007/s00421-020-04593-1.
- [19] Beiter T, Fragasso A, Hudemann J, et al. Neutrophils release extracellular DNA traps in response to exercise[J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2014, 117(3): 325-333. DOI: 10.1152/jappphysiol.00173.2014.
- [20] Fridlich O, Peretz A, Fox-Fisher I, et al. Elevated cfDNA after exercise is derived primarily from mature polymorphonuclear neutrophils, with a minor contribution of cardiomyocytes[J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(6): 101074. DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101074.
- [21] Umetani N, Hiramatsu S, Hoon DS. Higher amount of free circulating DNA in serum than in plasma is not mainly caused by contaminated extraneous DNA during separation[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1075: 299-307. DOI: 10.1196/annals.1368.040.
- [22] Jung M, Klotzek S, Lewandowski M, et al. Changes in concentration of DNA in serum and plasma during storage of blood samples[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(6 Pt 1): 1028-1029. DOI: 10.1373/49.6.1028.
- [23] Lee TH, Montalvo L, Chrebtov V, et al. Quantitation of genomic DNA in plasma and serum samples: higher concentrations of genomic DNA found in serum than in plasma[J]. *Transfusion*, 2001, 41(2): 276-282. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2001.41020276.x.

- [24] Lui YY, Chik KW, Chiu RW, et al. Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation[J]. *Clin Chem*, 2002, 48(3): 421-427.
- [25] Chen Z, Fadiel A, Naftolin F, et al. Circulation DNA: biological implications for cancer metastasis and immunology[J]. *Med Hypotheses*, 2005, 65(5): 956-961. DOI: 10.1016/j.mehy.2005.04.042.
- [26] Chan KC, Yeung SW, Lui WB, et al. Effects of preanalytical factors on the molecular size of cell-free DNA in blood[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(4): 781-784. DOI: 10.1373/clinchem.2004.046219.
- [27] Holdenrieder S, Burges A, Reich O, et al. DNA integrity in plasma and serum of patients with malignant and benign diseases[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1137: 162-170. DOI: 10.1196/annals.1448.013.
- [28] Harpel PC, Gordon BR, Parker TS. Plasmin catalyzes binding of lipoprotein (a) to immobilized fibrinogen and fibrin[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86(10): 3847-3851. DOI: 10.1073/pnas.86.10.3847.
- [29] Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, et al. Life and death of circulating cell-free DNA[J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(8): 1057-1067. DOI: 10.1080/15384047.2019.1598759.
- [30] Kerachian MA, Azghandi M, Mozaffari-Jovin S, et al. Guidelines for pre-analytical conditions for assessing the methylation of circulating cell-free DNA[J]. *Clin Epigenetics*, 2021, 13(1): 193. DOI: 10.1186/s13148-021-01182-7.
- [31] Bronkhorst AJ, Aucamp J, Pretorius PJ. Cell-free DNA: preanalytical variables[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 450: 243-253. DOI: 10.1016/j.cca.2015.08.028.
- [32] Thierry AR, Mouliere F, Gongora C, et al. Origin and quantification of circulating DNA in mice with human colorectal cancer xenografts[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(18): 6159-6175. DOI: 10.1093/nar/gkq421.
- [33] El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, et al. Circulating cell free DNA: preanalytical considerations[J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 424: 222-230. DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.022.
- [34] Beutler E, Gelbart T, Kuhl W. Interference of heparin with the polymerase chain reaction[J]. *Biotechniques*, 1990, 9(2): 166.
- [35] Barra GB, Santa Rita TH, de Almeida Vasques J, et al. EDTA-mediated inhibition of DNases protects circulating cell-free DNA from ex vivo degradation in blood samples[J]. *Clin Biochem*, 2015, 48(15): 976-981. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2015.02.014.
- [36] Lam NY, Rainer TH, Chiu RW, et al. EDTA is a better anticoagulant than heparin or citrate for delayed blood processing for plasma DNA analysis[J]. *Clin Chem*, 2004, 50(1): 256-257. DOI: 10.1373/clinchem.2003.026013.
- [37] Hidestrand M, Stokowski R, Song K, et al. Influence of temperature during transportation on cell-free DNA analysis[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2012, 31(2): 122-128. DOI: 10.1159/000335020.
- [38] Fernando MR, Chen K, Norton S, et al. A new methodology to preserve the original proportion and integrity of cell-free fetal DNA in maternal plasma during sample processing and storage[J]. *Prenat Diagn*, 2010, 30(5): 418-424. DOI: 10.1002/pd.2484.
- [39] Kang Q, Henry NL, Paoletti C, et al. Comparative analysis of circulating tumor DNA stability In K3EDTA, Streck, and CellSave blood collection tubes[J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(18): 1354-1360. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.03.012.
- [40] Rothwell DG, Smith N, Morris D, et al. Genetic profiling of tumours using both circulating free DNA and circulating tumour cells isolated from the same preserved whole blood sample[J]. *Mol Oncol*, 2016, 10(4): 566-574. DOI: 10.1016/j.molonc.2015.11.006.
- [41] Parpart-Li S, Bartlett B, Popoli M, et al. The effect of preservative and temperature on the analysis of circulating tumor DNA[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(10): 2471-2477. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1691.
- [42] Groen K, Lea RA, Maltby VE, et al. Letter to the editor: blood processing and sample storage have negligible effects on methylation[J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10(1): 22. DOI: 10.1186/s13148-018-0455-6.
- [43] Tatsumi N, Miwa S, Lewis SM, et al. Specimen collection, storage, and transmission to the laboratory for hematological tests[J]. *Int J Hematol*, 2002, 75(3): 261-268. DOI: 10.1007/BF02982039.
- [44] Holdenrieder S, Stieber P, Bodenmüller H, et al. Nucleosomes in serum as a marker for cell death[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2001, 39(7): 596-605. DOI: 10.1515/CCLM.2001.095.
- [45] Xue X, Teare MD, Holen I, et al. Optimizing the yield and utility of circulating cell-free DNA from plasma and serum[J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 404(2): 100-104. DOI: 10.1016/j.cca.2009.02.018.
- [46] Ungerer V, Bronkhorst AJ, Holdenrieder S. Preanalytical variables that affect the outcome of cell-free DNA measurements[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2020, 57(7): 484-507. DOI: 10.1080/10408363.2020.1750558.
- [47] Angert RM, LeShane ES, Lo YM, et al. Fetal cell-free plasma DNA concentrations in maternal blood are stable 24 hours after collection: analysis of first- and third-trimester samples[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(1): 195-198. DOI: 10.1373/49.1.195.
- [48] Board RE, Williams VS, Knight L, et al. Isolation and extraction of circulating tumor DNA from patients with small cell lung cancer[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1137: 98-107. DOI: 10.1196/annals.1448.020.
- [49] Dewitte A, Tanga A, Villeneuve J, et al. New frontiers for platelet CD154 [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2015, 4: 6. DOI: 10.1186/s40164-015-0001-6.
- [50] Risberg B, Tsui D, Biggs H, et al. Effects of collection and processing procedures on plasma circulating cell-free DNA from cancer patients[J]. *J Mol Diagn*, 2018, 20(6): 883-892. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2018.07.005.
- [51] Shiwa Y, Hachiya T, Furukawa R, et al. Adjustment of cell-type composition minimizes systematic bias in blood DNA methylation profiles derived by DNA collection protocols[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147519. DOI: 10.1371/journal.pone.0147519.
- [52] Bulla A, De Witt B, Ammerlaan W, et al. Blood DNA yield but not integrity or methylation is impacted after long-term storage[J]. *Biopreserv Biobank*, 2016, 14(1): 29-38. DOI: 10.1089/bio.2015.0045.
- [53] van Ginkel JH, van den Broek DA, van Kuik J, et al. Preanalytical blood sample workup for cell-free DNA analysis using Droplet Digital PCR for future molecular cancer diagnostics[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(10): 2297-2307. DOI: 10.1002/cam4.1184.

- [54] Swinkels DW, Wiegerinck E, Steegers EA, et al. Effects of blood-processing protocols on cell-free DNA quantification in plasma[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(3): 525-526. DOI: 10.1373/49.3.525.
- [55] Pisareva E, Roch B, Sanchez C, et al. Comparison of the structures and topologies of plasma extracted circulating nuclear and mitochondrial cell-free DNA[J]. *Front Genet*, 2023, 14: 1104732. DOI: 10.3389/fgene.2023.1104732.
- [56] Jones BA, Calam RR, Howanitz PJ. Chemistry specimen acceptability: a College of American Pathologists Q-Probes study of 453 laboratories[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1997, 121(1): 19-26.
- [57] Al-Soud WA, Rådström P. Purification and characterization of PCR-inhibitory components in blood cells[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(2): 485-493. DOI: 10.1128/JCM.39.2.485-493.2001.
- [58] Lippi G, Plebani M, Di Somma S, et al. Hemolyzed specimens: a major challenge for emergency departments and clinical laboratories[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2011, 48(3): 143-153. DOI: 10.3109/10408363.2011.600228.
- [59] Thomas L. Haemolysis as influence & interference factor[J]. *EJIFCC*, 2002, 13(4): 95-98.
- [60] Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2008, 46(6): 764-772. DOI: 10.1515/CCLM.2008.170.
- [61] Markus H, Contente-Cuomo T, Farooq M, et al. Evaluation of pre-analytical factors affecting plasma DNA analysis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7375. DOI: 10.1038/s41598-018-25810-0.
- [62] Johansson G, Andersson D, Filges S, et al. Considerations and quality controls when analyzing cell-free tumor DNA[J]. *Biomol Detect Quantif*, 2019, 17: 100078. DOI: 10.1016/j.bdq.2018.12.003.
- [63] Cadamuro J, von Meyer A, Wiedemann H, et al. Hemolysis rates in blood samples: differences between blood collected by clinicians and nurses and the effect of phlebotomy training[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2016, 54(12): 1987-1992. DOI: 10.1515/cclm-2016-0175.
- [64] Sozzi G, Roz L, Conte D, et al. Effects of prolonged storage of whole plasma or isolated plasma DNA on the results of circulating DNA quantification assays[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(24): 1848-1850. DOI: 10.1093/jnci/dji432.
- [65] Ellervik C, Vaught J. Preanalytical variables affecting the integrity of human biospecimens in biobanking[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(7): 914-934. DOI: 10.1373/clinchem.2014.228783.
- [66] Romanazzi V, Traversi D, Lorenzi E, et al. Effects of freezing storage on the DNA extraction and microbial evaluation from anaerobic digested sludges[J]. *BMC Res Notes*, 2015, 8: 420. DOI: 10.1186/s13104-015-1407-2.
- [67] Bronkhorst AJ, Ungerer V, Holdenrieder S. The emerging role of cell-free DNA as a molecular marker for cancer management[J]. *Biomol Detect Quantif*, 2019, 17: 100087. DOI: 10.1016/j.bdq.2019.100087.
- [68] Sato A, Nakashima C, Abe T, et al. Investigation of appropriate pre-analytical procedure for circulating free DNA from liquid biopsy[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(61): 31904-31914. DOI: 10.18632/oncotarget.25881.
- [69] Frattini M, Balestra D, Verderio P, et al. Reproducibility of a semiquantitative measurement of circulating DNA in plasma from neoplastic patients[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(13): 3163-3164; author reply 3164-3165. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.430.
- [70] Kopreski MS, Benko FA, Kwee C, et al. Detection of mutant K-ras DNA in plasma or serum of patients with colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 1997, 76(10): 1293-1299. DOI: 10.1038/bjc.1997.551.
- [71] El Messaoudi S, Rolet F, Moliere F, et al. Circulating cell free DNA: preanalytical considerations[J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 424: 222-230. DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.022.
- [72] Devonshire AS, Whale AS, Gutteridge A, et al. Towards standardisation of cell-free DNA measurement in plasma: controls for extraction efficiency, fragment size bias and quantification[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(26): 6499-6512. DOI: 10.1007/s00216-014-7835-3.
- [73] Tamkovich SN, Bryzgunova OE, Rykova EY, et al. Circulating nucleic acids in blood of healthy male and female donors[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(7): 1317-1319. DOI: 10.1373/clinchem.2004.045062.
- [74] Krasic J, Abramovic I, Vrtaric A, et al. Impact of preanalytical and analytical methods on cell-free DNA diagnostics[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 686149. DOI: 10.3389/fcell.2021.686149.
- [75] Streleckiene G, Forster M, Inciuraite R, et al. Effects of quantification methods, isolation kits, plasma biobanking, and hemolysis on cell-free DNA analysis in plasma[J]. *Biopreserv Biobank*, 2019, 17(6): 553-561. DOI: 10.1089/bio.2019.0026.
- [76] Barták BK, Kalmár A, Galamb O, et al. Blood collection and cell-free DNA isolation methods influence the sensitivity of liquid biopsy analysis for colorectal cancer detection[J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(3): 915-923. DOI: 10.1007/s12253-018-0382-z.
- [77] Oreskovic A, Brault ND, Panpradist N, et al. Analytical comparison of methods for extraction of short cell-free DNA from urine[J]. *J Mol Diagn*, 2019, 21(6): 1067-1078. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2019.07.002.
- [78] Warton K, Graham LJ, Yuwono N, et al. Comparison of 4 commercial kits for the extraction of circulating DNA from plasma[J]. *Cancer Genet*, 2018, 228-229: 143-150. DOI: 10.1016/j.cancergen.2018.02.004.
- [79] Page K, Guttery DS, Zahra N, et al. Influence of plasma processing on recovery and analysis of circulating nucleic acids[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77963. DOI: 10.1371/journal.pone.0077963.
- [80] Clausen FB, Krog GR, Rieneck K, et al. Improvement in fetal DNA extraction from maternal plasma. Evaluation of the NucliSens Magnetic Extraction system and the QIAamp DSP Virus Kit in comparison with the QIAamp DNA Blood Mini Kit[J]. *Prenat Diagn*, 2007, 27(1): 6-10. DOI: 10.1002/pd.1605.
- [81] Alborelli I, Generali D, Jermann P, et al. Cell-free DNA analysis in healthy individuals by next-generation sequencing: a proof of concept and technical validation study[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 534. DOI: 10.1038/s41419-019-1770-3.
- [82] Marrugo-Ramírez J, Mir M, Samitier J. Blood-based cancer biomarkers in liquid biopsy: a promising non-invasive alternative to tissue biopsy[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 2877. DOI: 10.3390/ijms19102877.
- [83] Pös O, Biró O, Szemes T, et al. Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications[J]. *Eur J Hum Genet*, 2018, 26(7): 937-945. DOI: 10.1038/s41431-018-0132-4.

数字技术在精神分裂症康复治疗中的应用进展

王茹 李先宾

100088 首都医科大学附属北京安定医院 国家精神心理疾病临床医学研究中心 精神疾病
诊断与治疗北京市重点实验室 北京脑重大疾病研究院 精神分裂症研究所

通信作者: 李先宾, Email: xianbinli@ccmu.edu.cn

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2024.11.009

【摘要】 精神分裂症作为一种慢性致残性疾病, 康复治疗是帮助患者回归社会的必要措施。既往康复治疗多以面对面形式进行, 数字技术的应用扩大了康复服务覆盖面, 降低了医疗成本, 促进了医疗公平性, 增加了精神分裂症患者康复的治疗机会。目前, 数字化精神康复涵盖监测和改善治疗依从性、症状识别、社交技能、认知功能、家庭干预等康复相关领域, 并被大多数患者所接受。本文对数字技术在精神分裂症康复治疗中的应用现状及效果进行综述, 为进一步研究提供参考依据。

【关键词】 精神分裂症; 数字技术; 康复治疗; 综述

基金项目: 首都卫生发展科研专项项目(首发2024-3-2128)

Application progress of digital technology in rehabilitation treatment of schizophrenia Wang Ru, Li Xianbin

Beijing Anding Hospital, Capital Medical University & National Clinical Research Center for Mental Disorders & Beijing Key Laboratory of Mental Disorders & Beijing Institute of Brain Disorders & Institute of Schizophrenia, Beijing 100088, China

Corresponding author: Li Xianbin, Email: xianbinli@ccmu.edu.cn

【Abstract】 Schizophrenia, as a chronic disabling disease, requires rehabilitation treatment as an

- [84] Chiu RW, Lui WB, El-Sheikhah A, et al. Comparison of protocols for extracting circulating DNA and RNA from maternal plasma[J]. Clin Chem, 2005, 51(11): 2209-2210. DOI: 10.1373/clinchem.2005.056366.
- [85] Bronkhorst AJ, Ungerer V, Holdenrieder S. Comparison of methods for the quantification of cell-free DNA isolated from cell culture supernatant[J]. Tumour Biol, 2019, 41(8): 1010428319866369. DOI: 10.1177/1010428319866369.
- [86] Ponti G, Maccaferri M, Manfredini M, et al. The value of fluorimetry (Qubit) and spectrophotometry (NanoDrop) in the quantification of cell-free DNA (cfDNA) in malignant melanoma and prostate cancer patients[J]. Clin Chim Acta, 2018, 479: 14-19. DOI: 10.1016/j.cca.2018.01.007.
- [87] Lee EY, Lee EJ, Yoon H, et al. Comparison of four commercial kits for isolation of urinary cell-free DNA and sample storage conditions[J]. Diagnostics (Basel), 2020, 10(4): 234. DOI: 10.3390/diagnostics10040234.
- [88] Nakayama Y, Yamaguchi H, Einaga N, et al. Pitfalls of DNA quantification using DNA-binding fluorescent dyes and suggested solutions[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150528. DOI: 10.1371/journal.pone.0150528.
- [89] Pöts Z, Pöts O, Styk J, et al. Technical and methodological aspects of cell-free nucleic acids analyzes[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8634. DOI: 10.3390/ijms21228634.
- [90] 应超, 蔡燕宁, 郝淑文, 等. 三种游离核酸提取试剂盒对血浆 cfDNA 提取性能的比较[J]. 实用医学杂志, 2023, 39(12): 1556-1563. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2023.12.017.
- Ying C, Cai YN, Hao SW, et al. Performance comparison of three cell-free nucleic acid extraction kits for plasma cfDNA extraction[J]. The Journal of Practical Medicine, 2023, 39(12): 1556-1563.
- [91] Yuan H, Zhu ZZ, Lu Y, et al. A modified extraction method of circulating free DNA for epidermal growth factor receptor mutation analysis[J]. Yonsei Med J, 2012, 53(1): 132-137. DOI: 10.3349/ymj.2012.53.1.132.
- [92] Lu JL, Liang ZY. Circulating free DNA in the era of precision oncology: pre- and post-analytical concerns[J]. Chronic Dis Transl Med, 2016, 2(4): 223-230. DOI: 10.1016/j.cdtm.2016.12.001.
- [93] Ramachandran K, Speer CG, Fiddy S, et al. Free circulating DNA as a biomarker of prostate cancer: comparison of quantitation methods[J]. Anticancer Res, 2013, 33(10): 4521-4529.
- [94] Bruno DCF, Donatti A, Martin M, et al. Circulating nucleic acids in the plasma and serum as potential biomarkers in neurological disorders[J]. Braz J Med Biol Res, 2020, 53(10): e9881. DOI: 10.1590/1414-431x20209881.

(收稿日期: 2024-05-08)

(本文编辑: 赵金鑫)