

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.17.001

血清 VEGF、PLGF 在新诊断非霍奇金淋巴瘤并发
血栓栓塞症患者中的水平及临床意义*张志鹏¹, 陈清江^{1△}, 张旭东²

1. 新乡医学院第三附属医院肿瘤科, 河南新乡 453003; 2. 郑州大学第一附属医院肿瘤科, 河南郑州 450052

摘要:目的 探讨血清血管内皮生长因子(VEGF)、胎盘生长因子(PLGF)在非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症患者中的水平及意义。方法 选取 2020 年 8 月至 2023 年 8 月郑州大学第一附属医院收治的 101 例采用一线化疗方案治疗的新诊断非霍奇金淋巴瘤患者作为研究对象。根据治疗期间是否并发血栓栓塞症将所有患者分为发生组与未发生组。比较两组患者基线资料及血清 VEGF、PLGF 水平等, 使用多因素 Logistic 回归分析血清 VEGF、PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的影响。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 VEGF、PLGF 及二者联合对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的诊断价值。结果 化疗期间, 101 例非霍奇金淋巴瘤患者中并发血栓栓塞症 22 例, 发生率为 21.78%。两组患者白细胞计数、性别、年龄等基线资料比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 发生组血清 VEGF、PLGF 水平明显高于未发生组, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 多因素 Logistic 回归分析结果显示, 血清 VEGF、PLGF 水平升高是非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的危险因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示, 血清 VEGF、PLGF 诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的曲线下面积(AUC)分别为 0.841、0.839, 二者联合诊断的 AUC 为 0.908, 联合诊断的 AUC 明显大于二者单独检测的 AUC($P<0.05$)。结论 非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症患者血清 VEGF、PLGF 水平呈升高状态, 血清 VEGF、PLGF 在诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症方面具有较高的应用价值, 且以二者联合诊断价值最高。

关键词: 血管内皮生长因子; 胎盘生长因子; 非霍奇金淋巴瘤; 血栓栓塞症; 诊断

中图法分类号: R446.9; R733.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)17-2465-06

The levels and clinical significance of serum VEGF and PLGF in newly
diagnosed non Hodgkin's lymphoma with thromboembolism*ZHANG Zhipeng¹, CHEN Qingjiang^{1△}, ZHANG Xudong²

1. Department of Oncology, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453003, China; 2. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China

Abstract: Objective To exploring the expression and diagnostic value of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and placental growth factor (PLGF) in non Hodgkin's lymphoma with thromboembolism. **Methods** A total of 101 patients with newly diagnosed non Hodgkin's lymphoma treated with first-line chemotherapy at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from August 2020 to August 2023 were selected as the study subjects. According to whether thromboembolism occurred during the treatment period, the patients were divided into the occurrence group and the non occurrence group. Baseline data and serum levels of VEGF and PLGF between the two groups were compared, and multivariate Logistic regression analysis was used to investigate the relationship between serum VEGF, PLGF and non Hodgkin's lymphoma with thromboembolism. Receiver operating characteristic (ROC) curve was draw to analyze the diagnostic value of serum VEGF, PLGF, and their combination for non Hodgkin's lymphoma with thromboembolism. **Results** During chemotherapy, 22 out of 101 patients with non Hodgkin's lymphoma complicated with thromboembolism developed thromboembolism, with an incidence rate of 21.78%. There was no statistically significant difference on baseline data between the two groups of patients ($P>0.05$). The levels of serum VEGF and PLGF in the occurrence group were significantly higher than those in the non occurrence group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The results of multivariate Logistic regression analysis showed that elevated levels of serum VEGF and PLGF were risk factors for thromboembolism in non Hodgkin's lymphoma patients ($P<$

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82070210); 河南省医学科技攻关重大项目(SBGJ202001008)。

作者简介: 张志鹏, 男, 硕士研究生在读, 主要从事淋巴瘤的基础与临床研究。△ 通信作者, E-mail: qingjiang_c@126.com。

0.05). The ROC curve analysis results showed that the area under the curve (AUC) of serum VEGF and PLGF for diagnosing non Hodgkin's lymphoma with thromboembolism were 0.841 and 0.839 respectively. The AUC of combined detection of the two indicators was 0.908, which was significantly higher than the AUC of the two indicators detected separately ($P<0.05$)

Conclusion Serum VEGF and PLGF levels elevate in patients with non Hodgkin's lymphoma complicated with thromboembolism. Serum VEGF and PLGF have high diagnostic value in the diagnosis of non Hodgkin's lymphoma complicated with thromboembolism, and the combination of the two indicators has the highest diagnostic value.

Key words: vascular endothelial growth factor; placental growth factor; non Hodgkin's lymphoma; thromboembolism; diagnosis

非霍奇金淋巴瘤是一种由免疫、感染、遗传等多种因素引起的淋巴造血组织恶性肿瘤,临床表现为进行性、无痛性淋巴结肿大,且会侵入胃肠、皮肤等器官,进而造成相应的器官损伤^[1-2]。化疗是治疗非霍奇金淋巴瘤的主要手段,通过口服、静脉滴注等多种方式让化学药物进入血液系统中,从而发挥遏制肿瘤细胞增殖、杀灭肿瘤细胞的作用^[3-4]。但由于疾病本身、化疗药物等因素的影响,患者在治疗期间易出现血栓栓塞症^[5-6]。而一旦发生血栓栓塞症,不仅会加重非霍奇金淋巴瘤的病情,还会缩短患者的生存期。目前,已有多种生物学标志物被应用于诊断血栓栓塞症的初期研究中,但其实用性、准确性如何仍不清楚^[7-8]。血清血管内皮生长因子(VEGF)是一种具有高特异性的促血管内皮细胞生长因子,在促进血小板凝聚、黏附中发挥重要作用^[9-10]。而血小板的高凝结化则是引起血栓栓塞症的病理基础。胎盘生长因子(PLGF)作为 VEGF 家族重要一员,也与多种心脑血管栓塞疾病关系密切^[11]。基于此,推断血清 VEGF、PLGF 或可成为诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的生物学指标。为验证上述推断,特采用前瞻性研究探讨血清 VEGF、PLGF 在非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症患者中的水平及诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 8 月至 2023 年 8 月郑州大学第一附属医院采用一线化疗方案治疗的非霍奇金淋巴瘤患者作为研究对象。纳入标准:符合《NC-CN 肿瘤学临床实践指南非霍奇金淋巴瘤分册》^[12]中诊断标准,经病理学检查确诊;初诊初治;符合实施 R-CHOP 方案(利妥昔单抗+环磷酰胺+阿霉素+长春新碱+泼尼松)指征;预计生存期 ≥ 3 个月;卡氏功能量表(KPS)评分^[13] ≥ 70 分。排除标准:当前或既往存在其他部位肿瘤史;妊娠或哺乳期女性;入组前已存在血栓性疾病;既往接受过对症治疗;长期使用影响凝血功能药物;过敏体质;存在认知功能异常,精神障碍;合并免疫系统紊乱;治疗依从性较差。脱落标准:未完整接受化疗方案;合并感染等其他并发症;机体功能急速下降无法继续治疗;无法耐受化疗方案;未完成后续随访;出现严重不良反应;治疗期间病死;因个人原因申请退出研究。根据上述标准纳入 101 例患者,

无失访患者。其中男 64 例,女 37 例;年龄 17~71 岁,平均年龄(45.05 $\pm$ 17.12)岁;病程 5~18 个月,平均病程(11.04 $\pm$ 4.62)月;KPS 评分 70~86 分,平均(78.18 $\pm$ 4.69)分。所有研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书。本研究获得郑州大学第一附属医院伦理委员会审核批准(批号:2022-KY-0869-001)。

1.2 方法

1.2.1 化疗方法 患者在入组后均接受常规检查,包括肝肾功能、凝血功能、电解质、血常规及生化指标等,确认无异常后实施 R-CHOP 化疗方案。具体操作:化疗前 1 d 予以利妥昔单抗注射液(上海罗氏制药有限公司,国药准字 J20170034,规格:每支 100.0 mg),静脉滴注 375.0 mg/m²;化疗第 1 天静脉滴注长春新碱(浙江海正药业股份有限公司,国药准字 H20043326,规格:每支 1.0 mg)1.4 mg/m²,多柔比星(Pharmacia Italia S. p. A,规格:每支 10.0 mg)50.0 mg/m²及环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字 H32020856,规格:每支 200.0 mg)750.0 mg/m²,化疗第 1~5 天口服泼尼松(津药药业股份有限公司,国药准字 H20237052,规格:每片 2.5 mg)50.0 mg,每天 2 次。21 d 为 1 个疗程,2 个疗程间隔 21 d,共治疗 4 个疗程。

1.2.2 检测方法 (1)血常规:化疗前采集患者空腹静脉血 5 mL,采用血细胞分析仪(佳林优利特医疗电子有限公司,型号:URIT-5360)检测患者白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、中性粒细胞计数、血红蛋白(Hb)水平。(2)血清学指标:化疗前采集患者空腹静脉血 5 mL,离心后提取上层血清,采用酶联免疫吸附试验检测血清 PLGF、VEGF 水平。所有试纸均购于上海酶联免疫生物科技有限公司。

1.2.3 基线资料收集 自制基线资料收集表,从 LIS 系统收集所有患者基线资料,收集内容包括体质质量指数(BMI)、B 症状(有、无)、美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分(0、1、2、3、4 分)、结外受累量等。

1.2.4 随访及分组 所有患者化疗前、每个化疗周期结束后均接受彩色多普勒超声及肺动脉造影检查,结合患者的临床症状、体征判定其是否出现血栓栓塞症。根据治疗期间是否并发血栓栓塞症分为发生组与未发生组。

1.2.5 血栓栓塞症判定方法 参照《肿瘤相关静脉血栓栓塞症的预防与治疗中国专家指南(2015 年版)》^[14] 中相关标准,经双下肢彩色多普勒超声检查确诊为下肢深静脉血栓,或采用肺动脉造影检查确诊为肺栓塞,即判断为血栓栓塞症。

1.3 统计学处理 采用 SPSS27.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计量资料采用 Shapiro-Wilk 检验正态性,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 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;等级资料比较采用秩和检验;采用多因素 Logistic 回归分析血清 VEGF、PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的影响;绘制血清 VEGF、PLGF 及二者联合诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的受试者工作特征(ROC)曲线,以曲线下

面积(AUC)评估血清 VEGF、PLGF 及二者联合对非霍奇金淋巴瘤者合并血栓栓塞症的诊断价值。AUC>0.90 提示诊断价值较高;0.70≤AUC<0.90 提示诊断价值良好;0.50≤AUC<0.70 提示诊断价值较低;AUC<0.5 提示无诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 非霍奇金淋巴瘤患者并发血栓栓塞症情况 101 例患者中并发血栓栓塞症 22 例,发生率为 21.78%(22/101),纳入发生组;另外 79 例患者未并发血栓栓塞症,纳入为未发生组。

2.2 两组患者基线资料比较 发生组与未发生组在 WBC、性别、年龄等方面比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者基线资料比较[n(%)或 $\bar{x} \pm s$]

组别	n	性别		年龄(岁)	病程(月)	KPS 评分(分)	BMI(kg/m ²)
		男	女				
发生组	22	17(77.27)	5(22.73)	47.09±20.72	10.50±5.09	78.05±5.15	25.24±2.25
未发生组	79	47(59.49)	32(40.51)	44.48±16.08	11.19±4.50	78.22±4.58	24.67±1.89
$\chi^2/t/Z$		2.343		0.631	-0.618	-0.149	1.207
P		0.126		0.530	0.538	0.881	0.230

组别	n	B 症状		ECOG 评分				
		有	无	0 分	1 分	2 分	3 分	4 分
发生组	22	12(54.55)	10(45.45)	7(31.82)	6(27.27)	5(22.73)	4(18.18)	0(0.00)
未发生组	79	35(44.30)	44(55.70)	43(54.43)	14(17.72)	10(12.66)	10(12.66)	2(2.53)
$\chi^2/t/Z$		0.725				1.616		
P		0.394				0.204		

组别	n	结外受累量(个)	WBC($\times 10^9/L$)	PLT($\times 10^9/L$)	中性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	Hb(g/L)
发生组	22	2.09±0.97	5.56±2.55	205.55±85.66	3.89±2.42	123.13±20.10
未发生组	79	2.08±0.92	5.98±3.36	219.06±81.73	4.08±2.94	120.39±25.03
$\chi^2/t/Z$		0.067	-0.539	-0.679	-0.265	0.472
P		0.947	0.591	0.499	0.792	0.638

2.3 两组患者血清 VEGF、PLGF 水平比较 发生组血清 VEGF、PLGF 水平明显高于未发生组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者血清 VEGF、PLGF 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(pg/mL)	PLGF(ng/L)
发生组	22	251.60±12.51	65.53±11.52
未发生组	79	235.62±11.41	50.36±11.52
t		5.688	5.461
P		<0.001	<0.001

2.4 多因素 Logistic 回归分析血清 VEGF、PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的影响 将患者是

否并发血栓栓塞症作为因变量(1=并发,0=未并发),将血清 VEGF、PLGF 作为自变量(均为连续变量,原值输入),进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示血清 VEGF、PLGF 水平升高是非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的危险因素($P<0.05$)。见表 3。

2.5 血清 VEGF、PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的诊断价值 将患者是否并发血栓栓塞症作为状态变量(1=并发,0=未并发),将血清 VEGF、PLGF 作为检验变量,绘制 ROC 曲线,结果显示血清 VEGF、PLGE 诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的 AUC 分别为 0.841、0.839;二者联合诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的 AUC 为 0.908,明显大于二者单独检测的 AUC($P<0.05$)。见表 4、图 1。

表 3 多因素 Logistic 回归分析血清 VEGF、PLGF 与非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的影响

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	OR 的 95%CI
VEGF	0.125	0.034	13.741	<0.001	1.133	1.061~1.211
PLGF	0.105	0.030	12.034	0.001	1.111	1.047~1.179
常量	-37.742	8.850	18.188	<0.001	—	—

注:—为无数据。

表 4 血清 VEGF、PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的诊断价值

指标	AUC	P	AUC 的 95%CI	最佳截断值	灵敏度	特异度	约登指数
VEGF	0.841	<0.001	0.737~0.945	247.800 pg/mL	0.773	0.886	0.659
PLGF	0.839	<0.001	0.761~0.917	55.220 ng/L	0.909	0.722	0.631
联合诊断	0.908	<0.001	0.839~0.977	—	0.818	0.924	0.742

注:—为无数据。

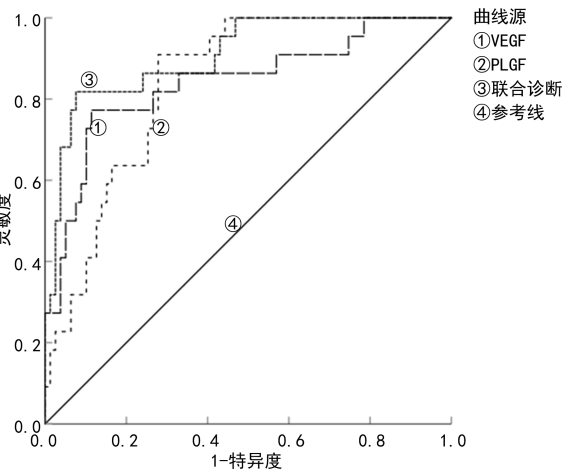


图 1 血清 VEGF、PLGF 诊断非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的 ROC 曲线

3 讨论

血栓栓塞症作为非霍奇金淋巴瘤患者化疗过程中常见并发症之一,其不仅会导致病情恶化,还会引起患者全身功能障碍,危及患者生命。MEDEIROS 等^[15]的研究也指出化疗过程中血栓栓塞症给淋巴瘤患者的预后带来了不良影响。由此可见,应当在非霍奇金淋巴瘤患者化疗过程中予以血栓栓塞症疾病监测。目前,尚未完全探明血栓栓塞症的发病机制,但由于凝血与血小板异常黏附有关,而 VEGF 与 PLGF 在促成血小板活化、黏附中发挥重要作用,因此本研究采用前瞻性研究方法分析血清 VEGF、PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的诊断价值。本研究 101 例患者中 22 例出现血栓栓塞症,发生率为 21.78%,明显高于徐燕霞等^[16]研究报道的 12.8%。分析与患者个体差异、化疗方案不同等因素有关。但总体而言,临床应重点关注非霍奇金淋巴瘤患者并发血栓栓塞症的风险,并予以针对性预防措施。

VEGF 是一种具有高度特异性的促血管内皮细胞生长因子,参与血管内皮细胞增殖、趋化过程,且能调节血管通透性、诱导血管细胞迁移。现有研究证实

VEGF 可通过提高血小板表达,刺激血小板凝集,诱导下肢深静脉血栓^[17]。李佳佳等^[18]报道,在高凝状态下,机体会反馈性上调 VEGF 水平,促进血栓因子机化,启动溶解机制,因此,VEGF 能有效预测多发肋骨骨折患者深静脉血栓的发生风险。但 VEGF 在非霍奇金淋巴瘤合并血栓栓塞症患者中的表达仍未明确,且其与血栓栓塞症关系尚不明了。本研究通过观察发生组与未发生组血清 VEGF 水平发现,发生组血清 VEGF 水平明显高于未发生组,多因素 Logistic 回归分析结果显示,血清 VEGF 水平升高是非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的危险因素,且 ROC 曲线分析结果显示血清 VEGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症具有良好的诊断价值。分析原因:非霍奇金淋巴瘤细胞通过分泌大量凝血酶,调节蛋白酶受体表达,活化血小板,刺激血小板致密颗粒产生二磷酸腺苷(ADP),刺激血小板增殖、凝集,启动血栓栓塞症发病进程。而过量的血小板在凝血酶的刺激下能增加 VEGF 的表达。此外,由于非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症患者局部病灶中会形成缺氧环境,抑制血管内皮细胞的表达与增殖,为逆转缺氧环境对血管内皮细胞的损伤,机体会通过大量释放 VEGF 拮抗缺氧环境对血管内皮细胞增殖的抑制效应,进而上调 VEGF 的表达。现有研究也证明,VEGF 是缺氧诱导因子-1 α 下游通路中重要的靶基因,在缺氧状态下,激增的缺氧诱导因子-1 α 会上调 VEGF 表达^[19]。VEGF 能够刺激机体产生大量的一氧化氮,一氧化氮可直接调节激活鸟苷酸环化酶基因表达,提高激活鸟苷酸环化酶的合成与活性。而现有研究已证实鸟苷酸环化酶是促进血小板凝集、调节凝血系统的主要因子^[20]。因此,VEGF 能通过调高一氧化氮表达,激活鸟苷酸环化酶活性,生成大量血小板,并提高血小板之间的凝聚力,最终导致血栓栓塞症出现。由此可见 VEGF 水平升高不仅受疾病本身的缺氧环境、高凝状态的影响,还会反作用于血小板,推动血栓的形成。

PLGF 是 VEGF 家族中重要的一员,主要通过与其受体特异性结合发挥促进血管内皮细胞增殖、增加血管通透性等生物学效应^[21]。现有研究表明,PLGF 能促进动脉粥样硬化斑块增长,降低斑块稳定性^[22]。蔡姝萍等^[23]报道高表达 PLGF 能增加血管栓塞性疾病的发生风险。本研究结果显示,发生组血清 PLGF 水平明显高于未发生组,多因素 Logistic 回归分析结果进一步显示血清 PLGF 水平升高是非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症的危险因素。分析原因:PLGF 能够与下游相关受体结合刺激组织凝血酶的分泌,与 FⅧa 结合成稳定复合物,促进凝血酶原激活度的生成,进而将纤维蛋白原转变为纤维蛋白栓子,发挥活化血小板、启动凝血功能的作用^[24]。而过量的 PLGF 则会过度激活组织凝血酶,导致血小板过度活化,增加血小板黏附性,最终形成血栓。不仅如此,血清 PLGF 还能通过趋化作用,促进单核细胞黏附、聚集,短期内释放大量的凝血因子,导致凝血系统产生过度依赖性激活,打破纤溶-凝血之间的平衡,从而引起血栓。ROC 曲线分析结果也显示,血清 PLGF 对非霍奇金淋巴瘤并发血栓栓塞症具有良好的诊断价值。再者,本研究结果还显示血清 VEGF 与 PLGF 联合检测对非霍奇金淋巴瘤合并血栓栓塞症的诊断价值最高,分析是因为二者联合可同时反映患者的缺血状况及凝血系统状况,从而提高诊断准确度。

综上所述,非霍奇金淋巴瘤合并血栓栓塞症患者血清 VEGF、PLGF 水平呈现高表达状态,血清 VEGF、PLGF 在诊断非霍奇金淋巴瘤合并血栓栓塞症方面具有良好的应用价值,且以联合诊断价值最高。但本研究仍存在以下几点不足之处,其一本研究化疗方案单一,化疗药物的改变是否会影响研究结果尚未可知;其二样本量较小,研究对象来源单一,地域差异是否会影响研究结果还有待考证。

参考文献

- [1] 张艳彬,陈文昆,周寅,等. NLRP3 炎性小体水平检测在非霍奇金淋巴瘤患者免疫治疗相关细胞因子风暴及化疗相关间质性肺炎中的预测价值分析[J]. 疑难病杂志, 2022,21(5):485-491.
- [2] 李良,潘志杰,张海桥,等. 非霍奇金淋巴瘤组织和氢醌诱导 TK6 淋巴瘤细胞及其裸鼠荷瘤组织 Ki-67 和 Bcl-6 基因表达及意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(13): 1064-1069.
- [3] YASUDA H, YASUDA M, KOMATSU N. Chemotherapy for non-Hodgkin lymphoma in the hemodialysis patient: a comprehensive review[J]. Cancer Sci, 2021, 112(7): 2607-2624.
- [4] SUZUKI M, TSUNODA S, KOYAMA D, et al. MTX-HOPE is a low-dose salvage chemotherapy for aged patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma [J]. J Clin Exp Hematop, 2021, 61(1): 22-28.

- [5] 杨婧诗,邹立群. 淋巴瘤相关静脉血栓的影响因素及风险评估模型的研究进展[J]. 中国全科医学, 2021, 24(23): 2992-2997.
- [6] JACQUET T, HUCHET V, BEDOUI M, et al. Tumor thrombus on ¹⁸F-FDG PET/CT in stage IV plasmablastic lymphoma[J]. Clin Nucl Med, 2022, 47(2): e140-e141.
- [7] 王玉虹,江秀娟,崔杰,等. 血栓分子标志物在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的检测及临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(10): 947-951.
- [8] 惠军朋,梁西强,高文瑾,等. 儿童淋巴瘤患者化疗前后血液中 lncRNA GAS5 水平变化的临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(23): 4213-4217.
- [9] 于海群,程锦锦,袁艳. 老年急性脑梗死患者外周血管内皮生长因子、正五聚蛋白 3、神经元特异性烯醇化酶水平与溶栓疗效的关系研究[J]. 实用医院临床杂志, 2022, 19(4): 85-88.
- [10] 刘军,胡洪生,吴红伟,等. VEGF 在门静脉高压患者术后门静脉系统血栓形成过程中的表达及意义[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2021, 28(1): 63-66.
- [11] 蔡文灿,刘熙君,刘彦明,等. 血清 PLGF 和 sFLT-1 水平联合检测对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者 PCI 术后 MACE 复发的诊断价值研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(2): 66-69.
- [12] HORWITZ S M, ZELENETZ A D, GORDON L I, et al. NCCN guidelines insights: non-Hodgkin's lymphomas, version 3. 2016 [J]. J Natl Compr CancNetw, 2016, 14(9): 1067-1079.
- [13] FRIENDLANDER A H, ETTINGER R L. Karnofsky performance status scale[J]. Spec Care Dentist, 2009, 29(4): 147-148.
- [14] 中国临床肿瘤学会(CSCO)肿瘤与血栓专家共识委员会. 肿瘤相关静脉血栓栓塞症的预防与治疗中国专家指南(2015 版)[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(20): 979-991.
- [15] MEDEIROS T, SEQUEIRA S, MENDES M, et al. Primary central nervous system lymphoma complicated by cerebral venous sinus thrombosis: a case report[J]. Eur J Case Rep Intern Med, 2023, 10(8): 003994.
- [16] 徐燕霞,黄静,杨宇佳,等. 非霍奇金淋巴瘤合并静脉血栓栓塞症患者相关因素分析[J]. 重庆医学, 2021, 50(10): 1684-1687.
- [17] 刘晨,卞泗善,孔鹏,等. D-二聚体、P-选择素及血管内皮生长因子与下肢骨折患者深静脉血栓形成的关系[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(15): 2926-2930.
- [18] 李佳佳,沙夕林,冒楷. 血清 D-二聚体联合血管内皮生长因子检测对多发肋骨骨折术后深静脉血栓风险预测价值[J]. 临床外科杂志, 2021, 29(7): 663-665.
- [19] 孙建英,陈禧钰,王理,等. 缺氧诱导因子-1 α 介导和调控肝癌相关血管生成因子的表达[J]. 中华肝脏病杂志, 2020, 28(11): 942-948.
- [20] MA Q, ZHANG W, ZHU C, et al. FUNDC2 regulates platelet activation through AKT/GSK-3 β /cGMP axis[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(11): 1672-1679. (下转第 2475 页)

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.17.002

cGMP 通路激活对小鼠脑缺血后神经发生的作用^{*}校 欢¹, 承欧梅², 韩 萍³, 谭 瑞^{4△}

1. 成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院药学部, 四川成都 610066; 2. 重庆医科大学附属第一医院神经内科, 重庆 400016; 3. 重庆大学附属人民医院医务处, 重庆 401147; 4. 重庆医科大学附属巴南医院药剂科, 重庆 401320

摘 要:目的 观察小鼠脑缺血后海马体神经发生的变化及其与环磷酸鸟苷(cGMP)相关调节机制。

方法 76 只 C57BL/6 雄性小鼠按照随机数字表法分为假手术组和模型组, 每组 38 只, 采用双侧颈总动脉夹闭法建立脑缺血模型。采用 Morris 水迷宫检测其学习记忆功能, 采用苏木精-伊红(HE)染色法检测海马体 CA1 区病理变化, 采用免疫荧光法检测海马体齿状回神经发生标志物 5'-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)、双肾上腺皮质激素(DCX)、BrdU/神经元核抗原(NeuN)阳性细胞数的表达, 采用比色法、硝酸还原法分别检测海马体一氧化氮合酶(NOS)活性和一氧化氮(NO)水平, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 cGMP 水平和磷酸二酯酶(PDE)9 活性, 采用 Western bolt 法检测 cGMP 依赖性蛋白激酶 G(PKG)、脑源性神经营养因子(BDNF)蛋白表达。**结果** 多变量方差分析结果显示, 在训练 2~5 d, 在相同训练天数模型组小鼠逃避潜伏期的时间同假手术组相比明显延长, 差异均有统计学意义($F=13.683, 8.625, 73.266, 90.327, P<0.05$)。在第 6 天的空间探索试验中, 假手术组、模型组小鼠穿越平台次数分别为(6.67 ± 1.37)、(1.67 ± 0.51)次, 模型组小鼠穿越平台次数明显少于假手术组, 差异有统计学意义($t=8.300, P<0.05$)。模型组海马体 CA1 区锥体神经元数目明显减少, 差异有统计学意义($P<0.05$), 提示脑缺血模型建立成功; 与假手术组比较, 模型组小鼠海马体齿状回神经发生标志物 BrdU、DCX、BrdU/NeuN 阳性细胞数明显增加, 同时 NOS 活性下降, NO 生成减少, PDE9 活性降低, 而 cGMP 水平增加, PKG 和 BDNF 蛋白表达上调, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PDE9 活性降低, cGMP-PKG 信号通路激活可能参与促进小鼠脑缺血后海马体神经发生过程。

关键词: 脑缺血; 海马体; 神经发生; 一氧化氮; 磷酸二酯酶; 环磷酸鸟苷

中图分类号: R446.9; R743

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)17-2470-06

The effect of cGMP pathway activation on neurogenesis after cerebral ischemia in mice^{*}

XIAO Huan¹, CHENG Oumei², HAN Ping³, TAN Rui^{4△}

1. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, China National Nuclear Corporation 416 Hospital, Chengdu, Sichuan 610066, China; 2. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 3. Department of Medical Service, Chongqing General Hospital, Chongqing University, Chongqing 401147, China; 4. Department of Pharmacy, Banan Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401320, China

Abstract: Objective To observe the changes of hippocampal neurogenesis after cerebral ischemia and its mechanism related to cyclic guanosine phosphate (cGMP) in mice. **Methods** A total of 76 C57BL/6 male mice were randomly divided into sham group and model group, with 38 mice in each group. The model of cerebral ischemia was induced via bilateral common carotid artery occlusion. Morris water maze was applied to assess spatial learning and memory of the mice, and Hematoxylin-Eosin (HE) staining was executed to appraise the pathological changes in the hippocampal CA1 region. Immunofluorescence was implemented to detect the count of positive cells of 5'-Bromo-2-deoxy Uridine (BrdU), doublecortin (DCX) and BrdU/Neuro-specific nuclear-binding protein (NeuN), the markers of neurogenesis in hippocampal dentate gyrus. The Nitric oxide synthase (NOS) activity and nitric oxide(NO) content were inspected by colorimetric and nitric acid reduction methods respectively. The cGMP level and phosphodiesterase (PDE) 9 activity were examined by ELISA kits, while cGMP dependent protein kinase G (PKG) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein ex-

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81871002)。

作者简介: 校欢, 女, 药师, 主要从事药物神经作用研究。△ 通信作者: E-mail: ruirui0615@163.com。