

糖尿病患者血清拉曼光谱与常规检测的临床分析

王文惠, 杨卫华, 堵一乔, 史学娟, 杨振华

(上海市宝山区中西医结合医院 检验科, 上海, 201999)

摘要:目的 探讨拉曼光谱与常规检测在糖尿病患者中的应用价值。方法 选取1 000例健康人群、300例糖尿病患者和19例新患糖尿病患者。检测并比较所有样本的糖化血红蛋白(HbA1c)、糖化白蛋白(GA)、游离脂肪酸(FFA)、胰岛素(INS)、1,5-脱水葡萄糖醇(1,5-AG)。采用拉曼光谱进行分析并计算误差率。结果 健康组HbA1c、GA、FFA、INS和1,5-AG的含量与糖尿病组、新患糖尿病组相比均有显著差异($P < 0.05$)；新患糖尿病组的GA、FFA和1,5-AG含量与糖尿病组相比有显著差异($P < 0.05$)，而HbA1c和INS含量无显著差异($P > 0.05$)。3类样本的拉曼谱峰相似，无法从谱峰上进行区分。PCA-LDA分析可较好地区分3类样本，总体误差率仅为0.3%。结论 采用PCA-LDA进一步对所测拉曼光谱进行分析，可有效区分3类样本，为糖尿病的临床分级和治疗提供参考依据。

关键词: 糖尿病；拉曼光谱；糖化血红蛋白；糖化白蛋白；游离脂肪酸；胰岛素；1,5-脱水葡萄糖醇；分级

中图分类号：R 587.1 文献标志码：A 文章编号：1672-2353(2019)12-012-04 DOI：10.7619/jcmp.201912004

Clinical analysis of serum Raman spectroscopy and routine detection in diabetic patients

WANG Wenhui, YANG Weihua, DU Yiqiao, SHI Xuejuan, YANG Zhenhua

(Department of Laboratory, Baoshan District Integrated Hospital of Traditional Chinese Medicine and Western Medicine in Shanghai, Shanghai, 201999)

ABSTRACT: Objective To investigate the clinical value of Raman spectroscopy and routine detection in diabetic patients. **Methods** A total of 1 000 healthy people, 300 diabetic patients and 19 newly diagnosed diabetic patients were selected. All samples were detected for glycosylated hemoglobin (HbA1c), glycosylated albumin (GA), free fatty acid (FFA), insulin (INS) and 1,5-anhydroglucitol (1,5-AG). Raman spectrum was used for analysis and the error rate was calculated. **Results** There were significant differences in levels of HbA1c, GA, FFA, INS and 1,5-AG between the healthy group and diabetic group, newly diagnosed diabetic group ($P < 0.05$). There were significant differences in levels of GA, FFA and 1,5-AG between the newly diagnosed diabetic group and the diabetic group ($P < 0.05$), while the levels of HbA1c and INS showed no significant differences ($P > 0.05$). The Raman peaks of the three types of samples were similar, and it was impossible to distinguish three types of samples from the peaks. The PCA-LDA analysis was able to distinguish three types of samples, and the overall error rate was only 0.3%. **Conclusion** Application of PCA-LDA for further analysis of the measured Raman spectroscopy result can effectively distinguish three types of samples, and provide reference for clinical grading and treatment of diabetes.

KEY WORDS: diabetes; Raman spectroscopy; glycosylated hemoglobin; glycosylated albumin; free fatty acids; insulin; 1,5-anhydroglucitol; grading

糖尿病是一种临床上较为常见的代谢疾病，以高血糖形式为主要表现，患者胰岛素分泌失调，进而导致肾脏、心脏和血管等不同程度的损伤。若不采取及时、有效的治疗，将对患者的健康造成严重威胁^[1]。中国患有糖尿病的人数众多，已占

全球糖尿病患者总数的1/3，更为严重的是中国有60.70%的糖尿病患者未被诊断，无法得到及时有效的治疗^[2]。鉴于目前缺少行之有效的糖尿病分级标准，考虑借用其他检测手段，对不同糖尿病患者的标本进行检测，建立相应的检测数据

库,后续可利用该检测手段和建立的特征数据库对患者进行良好的区分和后续的跟踪治疗,确保患者的治疗效果以及预后的疗效。拉曼光谱技术具有分析速度快、所需样品浓度低、样品无需预处理、灵敏度较高等优点,现已成为生物学诸多研究领域中的有力武器^[3-4]。本研究结合拉曼光谱本身的优良特性以及糖尿病检测的需求,考虑对糖尿病患者的标本进行对比分析,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 一般材料

选取2015年3月—2018年12月本院收治的1 000例健康人群、300例糖尿病患者和19例新患糖尿病患者作为研究对象,分为3组。所有患者均符合糖尿病诊断标准^[5]。健康人群男395例,女605例,平均年龄为(54.91 ± 16.66)岁;糖尿病患者男161例,女139例,平均年龄(62.07 ± 12.17)岁;新患糖尿病患者男11例,女8例,平均年龄(59.84 ± 8.34)岁。

1.2 方法

所有研究对象均采集静脉血4 mL,离心后取血清保存于-80℃冰箱待检。采用SysmexG8仪器和配套试剂检测糖化血红蛋白(HbA1c);贝克曼AU5800自动生化分析仪和检测试剂盒检测糖化白蛋白(GA);应用全自动生化分析仪(AU5800)测定游离脂肪酸(FFA);胰岛素(INS)采用试剂盒和新产业化学发光仪MAGLUMI4000

检测;全酶法测定1,5-脱水葡萄糖醇(1,5-AG)。采用DXR型拉曼光谱仪(Thermo Fisher公司,美国),测试条件为:波长532 nm,光栅1 800 gr/mm,100倍物镜,采集时间30 s,采集次数1次,100%激光功率,光谱范围400~1 800 cm⁻¹。本次拉曼光谱测定健康样本40例,糖尿病样本40例,新患糖尿病19例,每例样本检测4次,获得的光谱进行均一化处理后用于分析。

1.3 观察指标

记录并比较3组糖化血红蛋白、糖化白蛋白、游离脂肪酸、胰岛素、1,5-脱水葡萄糖醇差异情况;检测并观察拉曼光谱特征峰;PCA-LDA分析3组样本之间差异情况,并计算误差率。

1.4 统计学分析

采用SPSS 21.0进行统计学分析,计量资料以均数 ± 标准差表示,多组间的比较采用方差分析;计数资料以[n(%)]表示;以P < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组常规检查指标比较

健康组HbA1c、GA、FFA、INS和1,5-AG的含量与糖尿病组、新患糖尿病组相比均有显著差异(P < 0.05);新患糖尿病组的GA、FFA和1,5-AG含量与糖尿病组相比有显著差异(P < 0.05),而HbA1c和INS含量与糖尿病组相比无显著差异(P > 0.05),见表1。

表1 3组常规检查指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HbA1c/%	GA/%	FFA/(μEq/L)	INS/(μU/L)	1,5-AG/(μmol/L)
健康组	1 000	5.27 ± 0.21	13.24 ± 0.99	0.60 ± 0.25	8.88 ± 3.73	190.09 ± 88.02
糖尿病组	300	8.99 ± 1.88 *	25.29 ± 7.64 *	0.51 ± 0.26 *	12.03 ± 9.22 *	45.07 ± 59.59 *
新患糖尿病组	19	8.75 ± 2.29 *	22.99 ± 9.42 *#	0.74 ± 0.12 *#	14.51 ± 10.65 *	89.95 ± 105.91 *#

HbA1c:糖化血红蛋白;GA:糖化白蛋白;FFA:游离脂肪酸;INS:胰岛素;1,5-AG:1,5-脱水葡萄糖醇。

与健康组比较,*P < 0.05;与糖尿病组比较,#P < 0.05。

2.2 3组血清拉曼光谱结果比较

本研究测定健康样本40例(有效样本数35例),糖尿病样本40例(有效样本数34例),新患糖尿病19例(有效样本数17例),每例样本检测4次,获得的光谱进行均一化处理后用于分析。所测的原始光谱图为图1,图2为均一化处理后的光谱图。图3是糖尿病样本,新确诊糖尿病样本和健康样本均一化处理后的对比图,从图3中可以发现3类样本的拉曼谱峰非常相似,并不能很直观地从谱峰上区分3类样本,区分度较差。详细的谱峰归属见表2。

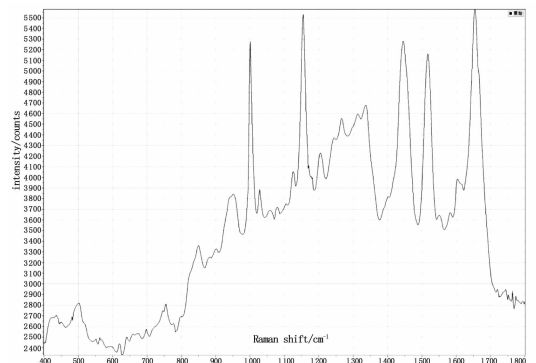


图1 原始拉曼光谱图

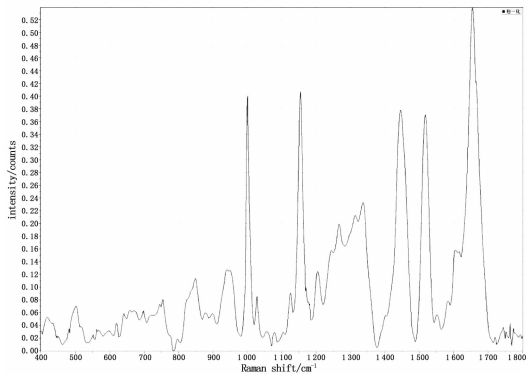
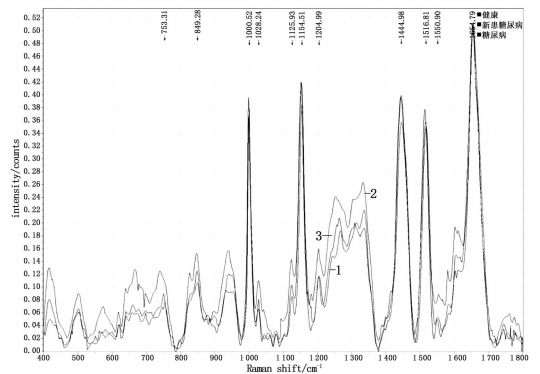


图 2 均一化之后拉曼光谱图



1: 健康样本; 2: 新患糖尿病样本; 3: 糖尿病样本。

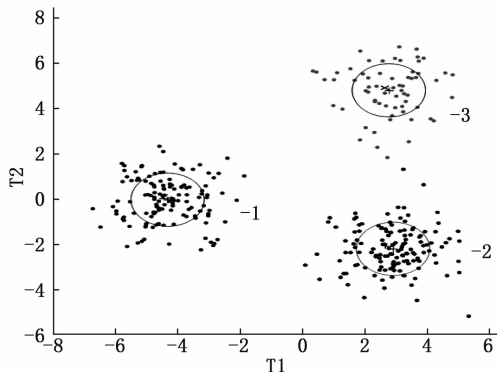
图 3 健康样本、新患糖尿病样本和糖尿病样本归一化后对比图

表 2 拉曼光谱谱峰归属表 (位移单位: cm⁻¹)

健康组	糖尿病	新患糖尿病	
753	750	740	Cyclobutanes, methyl benzenes, CH ₃ SCH ₂ -, Ethyl groups
849	847	845	vinyl amides, -(CO) NR - CH = CH ₂
1 000	998	998	苯
1 028	1 029	1 029	苯
1 125	1 121	1 121	蛋白质, Phospholipid C - C stretch
1 154	1 151	1 152	β-胡萝卜素
1 204	1 203	1 203	酪氨酸, 苯丙氨酸, N-乙酰基葡萄糖, 葡萄糖醛基
1 444	1 444	1 444	Phospholipid, C-H scissor in CH ₂
1 516	1 513	1 515	Imines, >C = N - H, (α - Sat.)NH. CH ₃ , - NH ₃ +
1 550	1 550	1 550	Protein tetinal - C = C - C = O
1 654	1 653	1 654	蛋白质, 酰胺 I, α 螺旋, 磷脂

2.3 3 组血清拉曼光谱 PCA-LDA 分析

为进一步对 3 组样本群体进行区分,本研究对糖尿病样本、新患糖尿病样本和健康样本的光谱进行 PCA-LDA 分析,得到典型图(图 4)。用数据本身来做测试集,误差率仅为 0.3%,见表 3。每组选取 10 个光谱做测试集,误差率为 13.3%,见表 4。由此可见,PCA-LDA 分析可以较好地地区分健康、糖尿病和新确诊糖尿病的样本,准确率较高。



1: 健康样本; 2: 糖尿病样本; 3: 新患糖尿病样本

图 4 PCA-LDA 典型图

表 3 所有数据为测试集结果 例

组别	健康组	糖尿病	新确诊糖尿病
健康组	133	0	0
糖尿病组	0	135	1
新确诊糖尿病组	0	0	64

表 4 随机取 10 个光谱为测试集结果 例

组别	健康组	糖尿病	新确诊糖尿病
健康组	9	0	1
糖尿病组	0	8	2
新确诊糖尿病组	0	1	9

3 讨论

2010 年中国对 19 个省市的糖尿病标准化患者概率进行调查,参与人数达到 425 256 人,以 HbA_{1c} ≥ 6.5% 为标准,糖尿病患病概率高达 11.6%,患病人数已达到 1.139 亿人次,糖尿病前期患病率达到 50.1%,说明中国此前有接近一半的成人达到准糖尿病阶段^[6]。糖尿病已然成为影响中国人健康的重大公共卫生问题。伴随着

经济的高速发展,不良生活习惯、运动的减少、人口的老齡化等因素使得中国糖尿病人数不断上升,且逐渐年轻化。提高预防和治疗糖尿病患者的临床疗效,已成为中国糖尿病领域研究的关键问题。

糖尿病患者血糖水平是一个不断升高的过程,从血糖开始上升到最终的确诊一般可达数年。尽早确诊加以治疗对患者治疗效果和预后情况都会起到积极作用,而针对不同时期的糖尿病患者,采取特定的方式进行治疗,可确保减轻患者的病情和并发症发生。黄佳丹^[7]采用阿卡波糖和二甲双胍治疗新确诊糖尿病患者,血糖、血脂和糖化血红蛋白都得到了有效改善。此外,DDP4 抑制剂药物在针对早期糖尿病患者和高血糖症的治疗时起到了很好的效果^[8]。而在糖尿病治疗过程中选用 G 蛋白偶联受体 119 (GPR119) 激动剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT-2) 抑制剂等新的治疗方法可取得较好的疗效^[9-10]。

本研究 3 组样本常规检查指标比较发现,健康组与糖尿病和新患糖尿病组差异显著,所测指标对比后可有效区分糖尿病患者与健康人群。而糖尿病组与新患糖尿病组各指标比较,新患糖尿病组的 GA、FFA 和 1,5-AG 含量与糖尿病组相比有显著差异,而 HbA1c 和 INS 含量相比糖尿病组无显著差异。HbA1c 稳定性较强,不易受饮食、血糖等因素影响,在糖尿病检测中具有重要的应用,美国糖尿病协会将 HbA1c $\geq 6.5\%$ 纳入糖尿病的诊断标准^[11-12]。而糖尿病组与新患糖尿病组该指标比较无显著差异,说明常规检测指标无法较好地区分 2 组样本,其可能与新确诊糖尿病患者的样本较少有一定的关系。此外,对 3 组样本进行拉曼光谱分析表明,3 组的拉曼谱峰非常相似,并不能很直观地从谱峰上区分 3 类样本。进一步采用 PCA-LDA 分析所测光谱可以较好地区分健康、糖尿病和新确诊糖尿病的样本,用所有数据本身来做测试集,误差率仅为 0.3%,准确率高。

综上所述,常规指标无法较好地区分糖尿病

和新患糖尿病两类样本,而采用 PCA-LDA 分析方法对所有样本的拉曼光谱进行分析,可有效区分 3 类样本,为临床针对不同类别样本进行有效的治疗提供参考依据。

参考文献

- [1] 郭丽婷,高志红,葛焕琦. 2 型糖尿病患者外周血 microRNA-155、细胞核因子- κ B 和可溶性细胞间黏附分子-1 的表达及其与血管并发症的关系研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(3): 213-217.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 30(8): 893-942.
- [3] 黄祖芳,戈小松,李永增,等. 基于拉曼光谱技术的甲状腺疾病检测的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(11): 3471-3474.
- [4] 李志华,郑祖赐,翁存程,等. 激光光镊拉曼光谱技术在生物学上的应用及进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(4): 1123-1129.
- [5] 邓子玄,周健,贾伟平. 2014 年美国糖尿病学会糖尿病医学诊治标准更新内容解读[J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2014, 18(1): 66-73.
- [6] 陆菊明. 糖尿病标准化诊疗工作任重道远[J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 5(10): 585-587.
- [7] 黄佳丹. 阿卡波糖与二甲双胍治疗糖尿病前期的效果对比[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(65): 86-88.
- [8] Richard E. pratley and Afshin salsali. Inhibition of DPP4: a new therapeutic approach for the treatment of type 2 diabetes [J]. Curr Med Res Opin, 2007, 23(4): 919-931.
- [9] Virginia M S, Shaline D, David M S. The cytoprotective effects of oleoylethanolamide in insulin-secreting cells do not require activation of GPR119 [J]. Br J Pharmacol, 2012, 165(8): 2758-2770.
- [10] Guntram S, Jorge L G, Julio R. Canagliflozin compared with sitagliptin for patients with type 2 diabetes who do not have adequate glycemic control with metformin plus sulfonyleurea [J]. Diabetes Care, 2013, 36(9): 2508-2515.
- [11] 晋臻,刘子杰,段勇. 糖化血红蛋白检测及其在糖尿病诊疗中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(11): 800-803.
- [12] 张晓,周剑利,邢军,等. 妊娠期糖尿病 75g OGTT 不同时点血糖异常孕妇的临床特点与妊娠结局分析[J]. 现代妇产科进展, 2016, 25(4): 265-268.