

文章编号:1007-1180(2011)04-0016-06

光学方法在无创生化检验中的研究现状

丁海泉, 卢启鹏*

(中国科学院 长春光学精密机械与物理研究所 应用光学国家重点实验室, 吉林 长春 130033)

摘要: 糖尿病是最常见的慢性疾病, 严重威胁人类健康。研究人体血糖浓度无创检测技术具有非常重要的现实意义。本文简述了国内外主要的无创血糖研究方法, 并对其中最具潜力的近红外光谱方法研究现状进行了综述, 总结前人的研究成果, 介绍了该领域目前面临的关键难题与新兴方法。

关键词: 无创; 化学计量学; 生化检验

中图分类号: O657.33, O433.4

文献标识码: A

DOI: 10.3788/OMEI20112804.0016

Research Status of Optical Method in Noninvasive Biochemical Examination

DING Hai-quan, LU Qi-peng*

(State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Diabetes is a common chronic diseases, which endangering human health seriously. Noninvasive blood glucose examination possesses very important practical significance. This paper describes the domestic and overseas major research methods for noninvasive blood glucose examination. Among them, the near-infrared spectroscopy is considered to be the most promising method. The results of previous studies are summarized in this paper, and the currently key challenges and new methods are generalized.

Keywords: noninvasive; chemometrics; biochemical examination

*基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (60878052, 60938002, 61078038)

1 人体无创血糖检测的意义

糖尿病等慢性多发性疾病严重威胁人类健康。世界卫生组织 (WHO) 统计数据显示: 截止到 2005 年, 全世界患有糖尿病的人口已有 1.8 亿, 并且这一数字预计到 2030 年时将增至 3.66 亿^[1]。在我国, 截止到 2007 年, 糖尿病的发病率达到 5%, 已确诊的糖尿病患者达 4 000 万之多。随着社会人口老龄化加剧与人们生活水平日益提高, 血糖异常患者的发病率也呈逐年上升趋势。然而, 人体生命科学是极其复杂的, 到目前为止, 医学工作者仍然没有找到能够根治糖尿病的途径。

治疗糖尿病常用的方法是控制饮食、口服降糖药或人工注射胰岛素, 这就要求患者经常要对血糖等指标进行检测。世卫组织呼吁糖尿病患者对自身血糖进行精确监测, 随时掌握体内血糖浓度状况, 实时调整药物用量。这对治疗糖尿病及预防其并发症有着重要的意义。常规的血糖检测需要抽血, 最大的问题是: (1) 给人带来疼痛、不便、甚至存在安全隐患、易感染; (2) 需用化学试剂, 每项生化指标的测定都需要相应的试剂, 检验成本高; (3) 结果反馈较慢, 很难实现重症患者所必需的连续实时监测。可以认为, 有创或微创测量方法在一定程度上影响了糖尿病的早期预防与及时治疗。

因此, 人体血糖等生化指标的低成本无创检测一直是医学科学工作者们追寻的目标。如果对人体进行无创血糖检测研究成功, 病人便可以轻松实现对自身血糖的 24 小时不间断测量, 成本低廉且丝毫不感觉不到痛苦。无创血糖监测技术将从根本上影响数千万糖尿病患者的生活质量, 并可以有效降低日常卫生保健给家庭和社会带来的经济负担。因此, 无创血糖检测方法的研究具有极为重要的意义。本文介绍了国内外主要的无创血糖研究方法, 并对其最具潜力的近红外无创血糖检验方法的研究现状及面临的困难进行了简要综述。

2 光学无创血糖研究方法

从研究方法上看, 国内外进行无创血糖测量研究的主要手段包括: 阻抗法、电化学方法、微波技术和光学方法等^[2]。

其中, 光学方法具有快速、无创伤、信息多维化等特点, 成为了目前无创伤血糖测量的主要手段。光学方法又分为: 旋光法^[3]、拉曼光谱法^[4]、光学相干层析 (Optical coherence tomography-OCT) 方法^[5]、中红外光谱法^[6]、近红外光谱法^[7]等。

2.1 旋光法

许多物质具有旋光性, 当平面偏振光通过这些物质时, 偏振光的振动平面向左或向右旋转, 这种现象称为旋光。因此, 可以通过对样品溶液透射偏振光偏振角的定量分析来测量溶液中某种待测成分浓度。但是, 偏转角一般仅会发生微小偏转, 检测难度高, 而且自由水中其他成分在偏振光的影响下也会产生旋光效应, 引入测量偏差。此外, 由于旋光法测量部位多是在人眼的前房, 测量实现难度较大, 从安全角度来说不容易被患者所接受。

2.2 拉曼散射光谱法

拉曼散射光谱是 1928 年 C·V·拉曼实验发现的。当光照射到样品后被分子散射的光频率发生变化, 这一现象称为拉曼散射。在理想条件下, 拉曼谱线强度与入射光强度和待测样品成分浓度之间成线性关系, 因而利用拉曼谱线可以对血糖定量分析。

拉曼光谱技术分析血糖的优点有: (1) 对于葡萄糖分子具有很好的特征性, 基频谱线锐利, 没有光谱相互重叠现象; (2) 水在近红外区域的拉曼光谱非常弱; (3) 对样品无特殊要求, 可以在生理条件下进行原位测量。

但是, 拉曼光谱测量也存在一些缺点, 如光源的稳定性、样品浓度改变时折射率的变化、样品自吸收、单色仪狭缝等都会对拉曼光谱测量造成影响。目前还没有拉曼光谱在体测量人体血糖浓度的临床结果发表。

2.3 OCT 方法

人体内葡萄糖浓度改变会引起真皮层衰减系数的变化,反映到 OCT 信号上则表现为在真皮层所对应的信号斜率变化,利用这一点可以采用 OCT 方法研究无创血糖检测。由于 OCT 采用的是相干测量方式,能很好地保证背向散射光子来自特定的深度,而不会受到其他层光子的干扰,因此血糖浓度与 OCT 信号的斜率具有很好的相关性。

2.4 中红外光谱法

中红外光谱具有较好的分子选择性,它主要反映分子的指纹吸收信息,不同分子之间的光谱重叠和干扰不严重。但是,中红外光谱用于无创血糖检测的主要局限在于中红外光对人体皮肤组织的穿透深度一般只有微米量级,不能到达含有血液的真皮层。因此,中红外光谱法目前多数情况是针对离体血液的成分分析。

2.5 近红外光谱法

近红外光对于体液和软组织具有很好的穿透性,是较为理想的检测光谱段。而随着计算机技术和化学计量理论的发展,近红外光谱定量分析的灵敏度、准确性和可靠性都有较大提高,并被迅速应用于无创医学生化检测研究。

总结以上所述几种血糖浓度无创测量的光学方法,近红外光谱结合多变量分析技术的研究方案具有巨大的发展潜力。

3 近红外光谱分析技术原理

近红外光是指介于可见区与中红外区之间的电磁波,波长约为 780~2 500 nm。现代近红外光谱分析技术(Near infrared spectroscopy-NIRS)以其分析快速、成本低、无试剂、不消耗样品、易于实现多组分在线同时测量分析等优点,成为近年来发展最快的分析测试技术之一,并已广泛应用于农业、食品、石油化工、制药等领域。

3.1 近红外光谱分析流程

近红外光谱分析过程,分为数据定标建模过程

和数据预测过程。作为一种间接分析技术,NIRS 必须通过建立近红外光谱与用标准方法测得物质的真实值之间的函数关系,即定标模型,来实现对未知样品的定性或定量的预测和分析。NIRS 定标分析过程首先要收集大量有代表性的样品,采用标准方法测定样品的组分或性质数据,利用近红外光谱分析仪器测量其近红外光谱。将标准方法测得的组分或性质数据与近红外光谱值用适当的化学计量方法建立定标模型,即建立样品组分或性质与 NIRS 数据间的回归方程,主要是获得模型的回归系数、均值、标准偏差、主成分数等参数。对于未知浓度的样品,测量其近红外光谱数据,利用建立的定标模型对其组分或性质进行预测分析^[8-9]。近红外光谱分析的流程如图 1 所示。

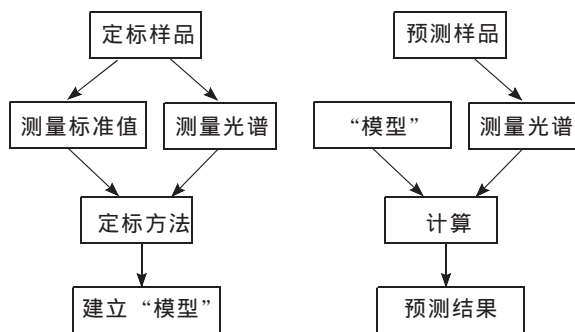


图 1 近红外光谱的分析过程

3.2 近红外光谱预处理及回归分析方法

物质的近红外光谱往往包含一些与待测组分无关的因素带来的干扰,如样品状态、散射、杂散光和测量条件等影响,导致未经过预处理的样品光谱中背景复杂并且伴随基线漂移和大量的谱峰重叠,难以辨认和利用,因此,在近红外光谱定标分析之前需要对样品的近红外光谱做适当的预处理。预处理的目的是从复杂的光谱中,消除各种非吸收——主要包括物理状况(散射、颗粒度等)、测量条件、仪器噪声等——引起的光谱背景干扰,从而提高校正模型的分析精度和稳定性。光谱预处理的主要方法有平滑、微分、基线漂移扣减、多元散射校正(MSC)、变量标准化(SNV)、正交信号校正(OSC)、

小波变换、遗传算法等。

在近红外谱区,某一个波长可能有多种成分光谱的重叠,因此难以采用单一波长区分不同成分。不过,任意两种成分在多波长或者在近红外的全谱区内不可能完全相同,因此可以采用多波长分析方法,能够有效解决多谱带重叠的光谱信息提取问题,获得较满意的预测结果。

目前常用的建立线性定标模型的方法有多元线性回归 (Multi linear regression-MLR)、主成分分析 (Principle component analysis-PCA)、主成分回归 (Principle component regression-PCR)、偏最小二乘回归分析 (Partial least square regression-PLS) 等。

4 近红外光谱技术用于无创血糖分析研究现状

Norris 在 1991 年的第四届国际近红外光谱学会议上,发表了“近红外在医学上的可能应用”^[10],激发了近红外光谱工作者研究无创血糖技术的热情,发表了大量的论文和专利。长期以来,科技发达国家的多家科研机构在该领域进行了深入细致的研究,主要集中在美国、日本、德国的大学或公司,取得了一些阶段性科研成果。其中,仅 2000 年在美国获得的专利中,有 100 多项是与无创血糖检测有关的。

学者们的研究内容主要涉及以下几个方面:利用生物分子水溶液模拟人体真实血液并研究模拟光谱与化学分析值间的相关性;对全血、血清、血浆进行了大量离体测量实验,同时对定标模型进行了多方面的研究;在无创测量方面也进行了尝试,并考察了人体组织不同部位及测量条件等对无创检测的影响。

4.1 模拟分析

Heise 小组^[11]用近红外光谱分析了人体血浆模拟溶液中血糖含量,采用偏最小二乘法 (PLS) 建立模型,血糖含量预测标准差 (SEP) 16 mg/dL。同时,也对人体真实血浆进行了分析,血糖含量 SEP 为 23 mg/dL。Saptari 等人^[12]模拟了人体血浆溶液 (包括

葡萄糖、牛血清蛋白、甘油乙酸酯、乳酸盐、尿素等成分),利用经典最小二乘算法分析溶液中葡萄糖含量。分别改变乳酸盐、甘油乙酸酯、牛血清蛋白和尿素等成分的浓度,检测模拟溶液中葡萄糖含量 SEP 为 0.45 mmol/L。Arnold 小组^[13]在 1 550~1 850 nm (第一倍频波段) 和 2 000~2 500 nm (合频波段) 研究了葡萄糖和尿素、甘油三酯、乳酸等生物分子的水溶液的摩尔吸收率,并分别对第一倍频和合频波段独立分析,合频建立的模型结果优于第一倍频,特别是葡萄糖和尿素获得了较好的分析结果。由第一倍频和合频模型分析葡萄糖 SEP 分别是 1.12 mmol/L 和 0.45 mmol/L,尿素为 7.33 mmol/L 和 0.10 mmol/L。他们的结论是:合频波段比第一倍频波段更适用于无创生化检测。Maruo 等人^[14]设计了平场光栅分光、光纤耦合测量系统。他们采用仿真方式,模拟光在皮肤组织中传播,利用 PLS 算法在 1 430~1 730 nm 波长范围建模,分析葡萄糖的 SEP 为 12.3 mg/dL。陈华才等人^[15]对人血清中 7 种生化成分建立定标模型,分别对人血清中总胆固醇、甘油三酯、总蛋白、白蛋白、载脂蛋白 B、低密度脂蛋白胆固醇、葡萄糖成分进行分析,相关系数 (R) 为 0.90, 0.96, 0.92, 0.76, 0.88, 0.52, 0.91,交叉检验标准差(RMSECV)为 15 mg/dL, 21.6 mg/dL, 266 g/L, 3.96 g/L, 0.091 g/L, 16.2 mg/dL, 0.49 mmol/L。

4.2 在体分析

Heise 小组^[11]针对口腔内壁静脉展开研究,无创预测血糖含量最低 SEP 为 2.1 mmol/L,认为利用近红外光谱进行无创血糖监测有很大的发展潜力。Burmeister 小组^[16]采用透射方式在第一倍频区域内对人体舌头进行了近红外光谱测量,分析葡萄糖的 SEP 为 3.4 mmol/L。Maruo 等人^[17]分别对血糖水平需要严格控制的重症监护组 (ICU) 患者和血糖正常的受试者进行测量。其中 ICU 患者遵医嘱服用营养液,健康受试者采用口服葡萄糖耐量测试 (OGTT) 试验,通过大量的实验建立定标模型。整个实验期间测量探头与皮肤位置保持不变。对 ICU 患者血糖预测 R

为 0.97, SEP 为 27.2 mg/dL。对健康人的血糖预测结果 R 为 0.71, SEP 为 28.7 mg/dL。不过, 此结果是在一天内得到的。陈文亮等人^[18]在一天内对 3 例志愿者进行 OGTT 试验, 并对单一个体进行建模分析, 采用的定标方法是 PLS 算法。 R 分别为 0.98, 0.97, 0.98, RMSECV 为 0.55 mmol/L, 0.46 mmol/L, 0.52 mmol/L。然而, 不同天所做的实验混合定标结果相关性较差, 用一天的数据建模预测其余天血糖值 $SEP > 10$ mmol/L。张洪艳等人^[19]在一天内对 6 名不同年龄健康志愿受试者做 OGTT 试验, 分别对同一个体、不同个体(相同年龄段和不同年龄段)建立了校正模型。同一个体建模效果较好, 近红外分析值与真实值间的相关系数在 0.94 左右, SEP 0.8 mmol/L。然而, 多个个体混合建模的结果要远比同一个体建模结果差。

4.3 扣除组织背景干扰分析法探索

从以上研究结果来看, 按照人体血浆成分配备的溶液进行近红外光谱分析都得到了比较满意的结果, 然而真正对人体进行无创分析的试验结果却与临床应用可接受的精度差距甚大。本课题组根据以往的研究认为, 阻碍近红外光谱技术实现临床意义上的人体无创血糖检测的原因主要包括以下 3 个方

面: (1)信号微弱; (2)背景干扰; (3)血流容积变化。

针对组织背景干扰问题, Yamakoshi K^[20]等借鉴脉搏测血氧原理提出脉搏测血糖理论。李刚等^[21]提出了与该原理类似的“动态光谱”方法。陈星旦等^[22]提出近红外“血流容积差光谱相减法”。徐可欣等^[23]从另一个角度出发, 提出“浮动基准”检测方法。他们试图在时间或空间上寻找一个参考点, 通过参考校正扣除人体背景吸收干扰。

5 结束结

总而言之, 多年以来, 无创血糖检测领域的竞争十分激烈, 不断有新的研究成果问世。但迄今为止, 没有任何公司或机构推出的无创血糖测量仪能够真正满足临床精度要求, 也无任何无创血糖测量仪能够通过美国的 FDA 认证。

认识到这一点后, 人们开始探索新的解决办法, 这些方法理论上能够抑制或扣除背景干扰和人体血流容积变化造成的影响, 如果继续深入研究并在现有的基础上加以改进, 很有希望能够提高血糖血脂等生化指标的无创检测精度, 最终达到临床应用的要求。

参考文献

- [1] Jones M, Harrison J M. The future of diabetes technologies and therapeutics[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2002, 4: 351-359.
- [2] 罗云瀚. 近红外无创伤血糖浓度测量方法的组织光学基础及应用研究[D]. 天津: 天津大学博士学位论文, 2006: 3-7.
- [3] Cote G L, Cameron B D. Noninvasive polarimetric measurement of glucose in cell culture media[J]. *J. Biomed. Opt.*, 1997, 2(3): 275-281.
- [4] Berger A J, Koo T W, Itzkan I, et al. Multicomponent blood analysis by near-infrared Raman spectroscopy[J]. *Applied Optics*, 1999, 38(13): 2916-2926.
- [5] Esenaliev R O, Larin K V, Larina I V. Noninvasive monitoring of glucose concentration with optical coherence tomography[J]. *Optics Letters*, 2001, 26(13): 992-994.
- [6] Kim Y J, Hahn S, Yoon G. Determination of glucose in whole blood samples by mid-infrared spectroscopy[J]. *Applied Optics*, 2003, 42(4): 745-749.
- [7] Heise H M. *Glucose Measurements by Vibrational Spectroscopy*[M]. Handbook of Vibrational Spectroscopy, John

- Wiley&Sons, LTD, 2002: 3280-3294.
- [8] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 2 版. 北京: 中国石化出版社, 2007:306-333.
- [9] 严衍禄. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [10] Norris K. *Possible Medical Applications of NIR*[M]. Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy, UK: Ian Michael Publication, 1992: 596-602.
- [11] Heise H M, Damm U, Kondepati V R. Reliable long-term continuous blood glucose monitoring for patients in critical care using micro-dialysis and infrared spectro- metry[J]. *SPIE*, 2006, 6093: 31-39.
- [12] Saptari V, Youcef-Toumi K. Design of a mechanical-tunable filter spectrometer for noninvasive glucose measurement[J]. *Applied Optics*, 2004, 43(13): 2680- 2688.
- [13] Chen J, Arnold M A, Small G W. Comparison of combination and first overtone spectral regions for near-infrared calibration models for glucose and other biomolecules in aqueous solutions[J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(18): 5405-5413.
- [14] Maruo K. New methodology to obtain a calibration model for noninvasive near- infrared blood glucose monitoring[J]. *Applied Spectroscopy*, 2006, 60(4): 441-449.
- [15] 陈华才, 杨仲国, 陈星旦, 等. 傅里叶变换近红外光谱法快速检测人血清生化成分[J]. 分析实验室, 2005, 24(7): 17-20.
- [16] Burmeister J J, Arnold M A. Evaluation of measurement sites for noninvasive blood glucose sensing with near-infrared transmission spectroscopy[J]. *Clinical Chemistry*, 1999, 45(9):1621-1627.
- [17] Maruo K. Noninvasive near-infrared blood glucose monitoring using a calibration model built by a numerical simulation method: trial application to patients in an intensive care unit[J]. *Applied Spectroscopy*, 2006, 60(12): 1423-1431.
- [18] 陈文亮, 崔厚欣, 刘蓉, 等. 1 100~1 700 nm 近红外光谱无创血糖测量的 OGTT 实验研究 [J]. 生物医学工程学杂志, 2004, 21(5): 824-827.
- [19] 张洪艳, 张来明, 陈月, 等. 近红外漫反射光谱在人体血糖无创检测中的应用[J]. 激光与红外, 2005, 35(2): 96-99.
- [20] Yamakoshi K, Yamakoshi Y. Pulse glucometry: a new approach for noninvasive blood glucose measurement using instantaneous differential near-infrared spectrophoto-metry[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, 11(5): 054028.
- [21] 李刚, 李尚颖, 林凌, 等. 基于动态光谱的脉搏血氧测量精度分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(10): 1821-1824.
- [22] 陈星旦. 近红外光谱无创生化检验的可能性[J]. 光学 精密工程, 2008, 16(5): 759-763.
- [23] 刘蓉, 徐可欣, 陈文亮, 等. 光学无创血糖检测中的主要问题及研究进展[J]. 中国科学 G 辑: 物理学 力学 天文学, 2007, 37(增刊): 124-131.

作者简介: 丁海泉 (1982-), 男, 汉族, 黑龙江齐齐哈尔人, 博士, 助理研究员, 2010年于中科院长春光机所获得博士学位, 主要从事近红外光谱仪器与技术研究。E-mail: haiquan_ding@163.com

卢启鹏* (1964-), 男, 汉族, 黑龙江省齐齐哈尔人, 硕士, 研究员, 博士生导师, 1990年于中科院长春光机所获得硕士学位, 主要从事光谱仪器及同步辐射光束线关键技术的研究。E-mail: luqp@ciomp.ac.cn