

• 论 著 •

唾液葡萄糖与血糖个体相关性的研究

刘琳琳¹, 李 玲², 李 蒙¹, 项贵明¹, 蒲晓允^{1△}

(1. 第三军医大学新桥医院检验科, 重庆 400037; 2. 中国人民解放军二六四医院检验科, 太原 030001)

摘 要:目的 探讨不同个体唾液葡萄糖和血糖值的相关性及重复性, 为制定血糖个性化监测化方案奠定基础。方法 选取临床确诊糖尿病患者为研究对象, 用自制 2,4,6-三溴-3-羟基苯甲酸为显色底物, 在 Hitachi-7150 上测定不同个体餐前唾液葡萄糖与血糖浓度, 计算不同个体两者的关系数。结果 不同糖尿病患者唾液葡萄糖与血糖相关系数有较大差别, 餐前相关系数平均为 0.85, 餐后相关系数平均为 0.79, 餐前相关系数 3 个月内的变异系数 $CV < 5\%$ 。结论 糖尿病患者餐前唾液葡萄糖浓度与血糖浓度相关系数较高, 而且比较稳定, 可用餐前唾液葡萄糖浓度替代血糖浓度, 开展无创快速检测。

关键词:糖尿病; 唾液; 葡萄糖

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.17.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)17-1927-02

An experimental research of the individual correlation between saliva glucose and blood glucose

Liu Linlin¹, Li Ling², Li Meng¹, Xiang Guiming¹, Pu Xiaoyun^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China;

2. Department of Laboratory Medicine, Chinese People's Liberation Army 264th Hospital, Taiyuan 030001, China)

Abstract: Objective To explore the individual correlation between saliva glucose and blood glucose and its reproducibility to establish foundation for formulate individual monitoring scheme of blood glucose. **Methods** Patients with definitely diagnosis of diabetes mellitus were enrolled and the levels of fasting saliva glucose and fasting blood glucose were detected on Hitachi7150, using self-made 2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid (TBHBA) as chromogenic substrate. The correlation coefficient between saliva and blood glucose were calculated for every subjects. **Results** The individual correlation coefficients between saliva glucose and blood glucose varies greatly between different patients. The average fasting correlation coefficient was 0.85, the average postprandial correlation coefficient was 0.79 and the coefficient of variability of fasting correlation coefficient was less than 5% within three months. **Conclusion** The individual fasting correlation coefficient between saliva glucose and blood glucose could be relatively high and stable. Fasting blood glucose could be replaced by fasting saliva glucose for the noninvasive and fast detection.

Key words: Diabetes mellitus; saliva; glucose

唾液葡萄糖浓度和血糖浓度之间是否存在相关性及相关程度一直备受争议, 普遍研究认为糖尿病患者唾液葡萄糖与血糖浓度具有较好的相关性^[1-2], 引起这种争议的主要原因在于影响唾液葡萄糖含量的因素很多, 群体间的相关性只能反应群体血糖和唾液葡萄糖相关的大致情况, 如果将此用于个体唾液葡萄糖浓度与血糖浓度相关性监测的参数指标, 其可靠性未得到验证, 难以准确地反映不同个体不同阶段的血糖水平。因此, 为了确定个体差异的影响, 本研究首次分析并探讨了个体唾液葡萄糖浓度和血糖浓度的相关性, 并通过连续观察一段时间个体唾液葡萄糖和血糖浓度的变化求出相关系数, 再进行长达数月的跟踪监测以观察此相关系数是否稳定, 为更好地以唾液葡萄糖浓度值准确监测血糖浓度值奠定更加科学可靠的基础^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集第三军医大学新桥医院内分泌科 30 例糖尿病患者作为研究对象, 所有患者均确诊为 2 型糖尿病 (T2DM), 入院时血糖水平在 9.5~16.4 mmol/L 之间, 平均血糖为 12.6 ± 2.1 mmol/L。其中男 16 例, 女 14 例, 年龄 34~80 岁, 平均 56 岁。病程 5~20 年, 其中 6~10 年 12 例, 11~15 年 8 例, 16~20 年 10 例。1 例患者伴发视网膜病变、神经病变或大血管病变, 所有患者未伴发其他免疫代谢性疾病且口腔环境良

好。患者住院治疗时间为 10~14 d, 出院时患者血糖基本保持稳定。从受检者中随机选取 10 例 (男 4 例, 女 6 例), 均为 T2DM, 年龄 34~66 岁, 平均 57 岁。所有受检者未伴有其他免疫代谢性疾病且口腔条件良好; 进行个体相关性的稳定性研究。

1.2 仪器与试剂 采用 Hitachi-7150 全自动生化分析仪。保定长城临床试剂有限公司生产血糖应用型检测试剂盒 (GOD-PAP 法), 批号: 20060310。新色原 2,4,6-三溴-3-羟基苯甲酸 (TBHBA) 按 Trinder 报道的方法合成^[4]。0.1 mol/L 柠檬酸溶液。葡萄糖标准溶液 200 mg/L。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 血糖测定用静脉抽血法采集标本。唾液的采集方法用酸刺激法, 在静脉抽血后 20 min 左右采集唾液标本。先用清水漱口 3 次, 在舌背前部滴加约 200 μ L 的 0.1 mol/L 柠檬酸溶液, 1 min 后再滴加 1 次。受试者自觉唾液分泌开始增多时先尽量吐出所有液体, 然后在舌下放一小团洁净、灭菌、干燥的脱脂棉球, 完全浸透唾液后取出, 挤出唾液置离心管内 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液上机检测。

1.2.2 受试对象于每日早餐前、后分别进行唾液葡萄糖浓度及血糖浓度检测, 连续监测 1 周, 然后为每人计算出 1 周内餐前唾

△ 通讯作者, E-mail: puxiaoyong@yahoo.com。

液葡萄糖浓度和血糖浓度的相关系数和餐后二者的相关系数。

1.2.3 测定方法 血糖的测定按说明书要求在 Hitachi-7150 全自动生化分析仪上完成。唾液葡萄糖测定的试剂是在酶试剂中按 0.5%(W/V)溶解 TBHBA,于每次测定前配制。上机测定的主要试验参数为:样品 20 μ L;试剂 250 μ L;温度 37 $^{\circ}$ C;副波长 660 nm;主波长 505 nm;终点法测定第 50 点的吸光度^[5]。

1.2.4 统计学处理 实验数据用百分率(%)及 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组间比较用样本均数 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。血糖与唾液葡萄糖间的相关性采用直线相关分析。所有数据统计分析均运用 SPSS 统计软件处理。

2 结 果

2.1 唾液葡萄糖浓度和血糖浓度的相关系数 30 例糖尿病患者餐前唾液葡萄糖浓度和血糖浓度的相关系数平均为 0.86,餐后唾液葡萄糖浓度和血糖浓度的相关系数平均为 0.79,结果见图 1。

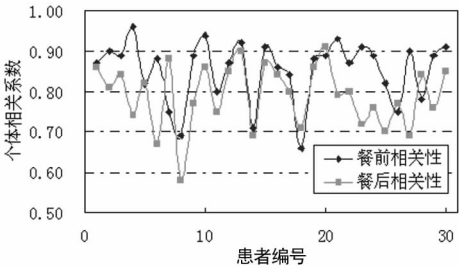


图 1 糖尿病患者唾液葡萄糖与血糖个体相关性

2.2 唾液葡萄糖与血糖浓度的动态变化 在上述 30 例患者中随机选取 10 例患者,在其他实验条件、方法不变的情况下,每人每天进行早餐前唾液葡萄糖浓度和血糖浓度的检测及早餐后唾液葡萄糖浓度与血糖浓度的检测,连续 3 个月跟踪监测。将 10 位受检者 3 个月连续监测的结果列表比较分析,观察个体相关系数的稳定性,结果见表 2。

表 2 个体相关系数的稳定性

编号	餐前相关系数			CV	餐后相关系数			CV
	9 月	10 月	11 月		9 月	10 月	11 月	
1	0.93	0.89	0.82	5.8%	0.76	0.77	0.79	4.9%
2	0.87	0.91	0.90	3.1%	0.84	0.88	0.80	3.7%
3	0.91	0.89	0.92	2.6%	0.71	0.84	0.72	12.1%
4	0.89	0.87	0.81	6.2%	0.69	0.84	0.76	14.1%
5	0.82	0.84	0.82	2.7%	0.66	0.53	0.70	8.4%
6	0.75	0.79	0.78	5.0%	0.81	0.79	0.77	5.9%
7	0.90	0.92	0.86	4.8%	0.67	0.64	0.69	4.9%
8	0.78	0.76	0.77	4.3%	0.71	0.79	0.84	9.5%
9	0.89	0.84	0.86	3.6%	0.82	0.81	0.76	4.6%
10	0.91	0.94	0.89	3.2%	0.82	0.83	0.85	3.2%

3 讨 论

在以往唾液葡萄糖与血糖浓度的研究中^[6],研究人员都是就群体唾液葡萄糖与血糖的相关性进行研究,其结果不能代表个体水平。需注意到唾液葡萄糖含量低,其浓度也受多种因素

的影响,人与人之间存在着个体差异^[7],因此个体间的唾液葡萄糖浓度值差异也是很大的。年龄、性别、病程、口腔环境、生活习惯都是影响唾液葡萄糖含量的重要因素,因此,本研究通过对单一个体唾液葡萄糖与血糖的相关性研究以探寻二者的相关系数。

同时大量的文献报道,唾液葡萄糖浓度升高使牙齿及牙周组织长期浸泡在一个较高糖浓度的环境中,牙龈组织易于肿胀发炎,牙龈损伤不易愈合,高糖状态有利于细菌的滋生,可对牙齿及牙周组织造成一定程度的破坏等^[8]。个体差异是无法控制与改变的,这也是笔者重点研究个体唾液葡萄糖浓度与血糖浓度相关性的原因。

为评价个体间唾液葡萄糖浓度与血糖浓度之间的关系,本研究中笔者以 1 周为时间段,采用餐前、餐后血糖、唾液葡萄糖连续检测的方法,连续监测 3 个月,并为每个个体分别统计出了每周的餐前、餐后的相关系数。同时笔者也为这 30 例患者探寻了群体相关系数,餐前相关系数 *r*=0.86,餐后相关系数 *r*=0.79。由表 2 可见,群体相关系数不代表不同糖尿病患者的唾液葡萄糖浓度与血糖浓度之间的关系。个体相关系数有高低,高的 *r* 值达到 0.93,低的仅有 0.66,由于该患者糖尿病病程有 36 年,长期使用胰岛素和降糖类药物,同时它又伴有视网膜病变、神经病变或大血管病变^[9],在监测过程中仍持续用软化血管等其他药物,因此监测结果并不理想,但从另一个角度也证实了,不同的个体唾液葡萄糖浓度与血糖浓度的相关性是有差异的,因此建立个体相关系数是必须的,也是科学的。

为进一步研究个体唾液葡萄糖浓度和血糖浓度相关性的稳定性情况,笔者又从 30 例 T2DM 患者中随机选取 10 例进行为期 3 个月,时间段为 1 周的连续跟踪监测,在实验时间、条件、方法以及操作人员都不变的情况下观察个体相关性是否稳定。从表 2 的结果经过数据比较分析可以证明,个体间唾液葡萄糖浓度与血糖浓度的相关系数虽然各有不同,而且略有变化,但是餐前唾液葡萄糖浓度与血糖浓度相关系数的 CV<5%,表明总体趋势是较稳定的。餐后 0.5 h 的唾液与血糖浓度的相关情况不好,稳定性也各有不同,具体原因有待进一步研究。由此可以确定以个体为单位,通过唾液葡萄糖浓度监测反映血糖浓度的变化是可行的,但必须取餐前标本才具有临床意义。

参考文献

[1] 梅建生,张雅利,禹帅.唾液葡萄糖与血液葡萄糖的检测与相关性分析[J].激光生物学报,2006,15(1):94-96.

[2] Winkelman JW, Tanasijevic MJ. Noninvasive testing in the clinical laboratory[J]. Clin Lab Med,2002,22(2):547-558.

[3] 吕丽芳,王椿,刘关键,等.自我血糖监测对预测糖调节异常者与糖尿病患者的日内血糖波动的价值[J].四川大学学报:医学版,2011,42(1):95-100.

[4] Trinder P, Webster D. Determination of HDL-cholesterol using 2, 4, 6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid with a commercial CHOD-PAP reagent[J]. Ann Clin Biochem,1984,21(5):430-433.

[5] 刘琳琳,王华忠,左世友,等.以 TBHBA 为色原的唾液葡萄糖全自动分析法的建立及应用[J].重庆医学,2006,35(17):1552-1553.

[6] 姜利英,任丽杰,陈青华,等.人体唾液葡萄糖(下转第 1931 页)

ELISA 试剂盒作为对照,同时检测临床孕妇血清标本 280 例。计算本方法的抗 TOX IgG 抗体诊断灵敏度、特异度分别为 91.7%、96.8% ($P<0.05$),二者符合率为 96.4% (见表 2),YI 为 0.885;抗 TOX IgM 抗体诊断灵敏度、特异度分别为 92.9%、97.3% ($P<0.05$),二者符合率为 97.1% (见表 3),YI 为 0.9,说明两种方法的测定结果无显著性差异。同步检测两种抗体的检测阳性率达 8.2%,较 ELISA 法单个检测其中一个抗体阳性率高 (见表 4)。本方法同步检测抗 TOX IgG、IgM 抗体具有较好的诊断价值。

3 讨 论

ELISA 是当前诊断 TOX 抗体的主要检测方法。目前国内有关 TOX IgG、IgM 抗体的 ELISA 诊断试剂盒很多,但由于缺乏统一的质量控制标准,这两种试剂盒大多存在检测结果符合率低、灵敏度和特异度不高等问题^[8];进口试剂虽然检测效果好,但价格昂贵,且存在每次所检测的抗体种类有限的缺点,需对各抗体逐一检测,耗时较长,难以满足临床快速检测的需要。本实验采用间接法原理同步检测抗 TOX IgG、IgM 抗体,以免疫磁性微球作为固相载体,利用 QDs 多色性标记的优势,以不同发射波长的 QDs 标记羊抗人 IgG 和羊抗人 IgM,可以达到同时检测抗 TOX IgG、IgM 两种特异性抗体的目的。

同步检测抗 TOX IgG、IgM 抗体,可能会存在两种抗体同时识别同一抗原表位现象,但不同抗原表位同时被 IgG、IgM 抗体识别程度不同。本实验采用主要被抗 TOX IgG 抗体识别的 SAG1 重组抗原,和主要被抗 TOX IgM 抗体识别的 SAG2 重组抗原作为固化抗原^[9-10]。将不同浓度的抗 TOX IgG、IgM 抗体阳性标本交叉组合后,按同步检测方法进行检测,观察同步检测抗 TOX IgG、IgM 抗体时有无相互干扰,结果表明抗 TOX IgG、IgM 抗体阳性标本间的相互干扰较小,没有出现假阴性检测结果,可以满足同步检测的需要。而当标本中同时存在较高浓度的 IgG、IgM 抗体时,前者可能竞争结合固相抗原而使一部分 IgM 抗体不能结合到固相上,会导致 IgM 检测结果的假阴性。本实验采用免疫磁性微球作为固相载体,由于磁性微球具有较大的比表面积^[11-12],可以包被大量的抗原,在均匀分散到整个反应溶液中后,又可以使抗原抗体间的反应更彻底,即使在遇到较高抗体浓度的标本时,磁性微球表面的固相抗原也可以满足 IgG、IgM 的检测需要,IgG、IgM 抗体竞争结合抗原位点的现象较少,很大程度上减少了假阴性检测结果的出现。

以进口 ELISA 试剂盒作为对照,同时检测孕妇血清标本 280 例,研究结果表明,抗 TOX IgG、IgM 抗体的检测符合率分别为 96.4%、97.1%,说明两种方法的测定结果符合程度较高。同时笔者发现有的血清标本中只能检出一种抗体,而有的可以同步检测出两种抗体,同时检测两种抗体的可以使检测阳

性率达 8.2%,较 ELISA 法每次检测其中一类抗体的阳性率高,再一次证明本方法同步检测抗 TOX IgG、IgM 抗体具有较好的诊断价值。

本研究成功构建了抗 TOX IgG、IgM 抗体同步检测体系,研究结果表明,与 ELISA 法相比,本方法不仅操作更简便、检测更快速,具有较好的灵敏度和特异度,同时检测两种抗体也明显提高了 TOX 感染的阳性检测率,为临床提供了一种新型的双抗体同步检测技术。

参考文献

- [1] 谢霖崇. 人体弓形虫病的临床诊断[J]. 中国人兽共患病杂志, 1997;13(6):60.
- [2] 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(5): 332-340.
- [3] 王艳华, 张德林, 李学瑞. 弓形虫病免疫学杂志诊断方法研究进展[J]. 动物医学进展, 2007, 28(6): 53-57.
- [4] Corr SA, Rakovich YP, Gun ko YK, et al. Multifunctional magnetic-fluorescent nanocomposites for biomedical applications [J]. Nanoscale Res Lett, 2008, 3(3): 87-104.
- [5] Dilemiz SE, Say R, Buyuktiryaki S, et al. Quantum dot nanocrystals having guanosine imprinted nanoshell for DNA recognition [J]. Talanta, 2008, 5(75): 890-896.
- [6] Mulder WJ, Koole R, Brandwijk RJ, et al. Quantum dots with a paramagnetic coating as a bimodal molecular imaging probe [J]. Nano Lett, 2006, 6(1): 1-6.
- [7] Smith AM, Dave S, Nie S, et al. Multicolor quantum dots for molecular diagnostics of cancer [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2006, 6(2): 231-244.
- [8] 于恩庶. 对国内几种弓形虫 IgG 抗体检测试剂盒的再评估[J]. 中国人兽共患病杂志, 2001, 17(4): 104-108.
- [9] 蒋守富, 张述义, 曹琳, 等. 弓形虫感染者血清 IgM 和 IgG 抗体免疫印迹谱分析[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(11): 973-976.
- [10] 苑文英, 刘辉, 刘秀华, 等. 弓形虫表面抗原和致密颗粒蛋白的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(3): 289-291.
- [11] Morozov VN, Morozova TY. Active bead-linked immunoassay on protein microarrays [J]. Analytica Chimica Acta, 2006 (564): 40-52.
- [12] Tully E, Hearty S, Leonard P, et al. The development of rapid fluorescence-based immunoassays, using quantum dot-labelled antibodies for the detection of *Listeria monocytogenes* cell surface proteins [J]. Int J Biol Macromol, 2006, 39(1-3): 127-134.

(收稿日期: 2011-05-25)

(上接第 1928 页)

- 生物传感器[J]. 微纳电子技术, 2010, 47(12): 753-756.
- [7] 孙慧斌, 钟德钰, 颜刚, 等. 糖尿病患者胰岛素治疗前后唾液葡萄糖含量分析[J]. 实用口腔医学杂志, 2006, 22(6): 866-868.
- [8] 王福俊, 王培楠. 血糖检测中的影响因素分析与对策[J]. 检验医

学与临床, 2009, 6(18): 1560-1561.

- [9] 刘波, 张晓艳, 缪京莉, 等. 2 型糖尿病患者脂代谢紊乱与大血管病变的关系[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(1): 5-6.

(收稿日期: 2011-05-25)