

论著·临床研究

不同血脂水平下血清拉曼光谱特征及其对高脂血症的预测价值

杨春英,杨 梅,周 冰,周 燕,熊丽娟,崔丽丽,主 劲,曹永芬
(贵州中医药大学第二附属医院检验科,贵州贵阳 550001)

摘 要:**目的** 通过收集并检测健康人群的血清,探究不同血脂水平下检测血清拉曼光谱特征及其对高脂血症的预测价值。**方法** 收集 2017 年 8 月至 2018 年 3 月于该院就诊的血脂异常患者 50 例及同龄健康者 50 例(对照)进行研究。检测血脂异常,利用拉曼光谱分析建立数学模型预测结果精度,并进行拉曼光谱谱线分析,统计分析诊断灵敏度、特异度。**结果** 本次试验每例样本检测 4 次,进行均一化处理。2 组总胆固醇(TC)、总蛋白(TP)、低密度脂蛋白(LDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)、葡萄糖(GLU)及三酰甘油(TG)PLS 建模的方法预测均方根误差值和相关系数比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。在拉曼位移 1 001、1 153、1 447、1 514、1 656/cm 处,异常血脂的患者拉曼光谱峰强显著高于健康人群,可以通过对人群选择性的几处拉曼光谱的检测,来进行高脂血症的预测和诊断。**结论** 采用拉曼光谱技术,能够在不同拉曼位移的光谱峰强检测出健康者和血脂异常患者血清中代谢产物存在的信息差异。不同血脂水平下检测血清拉曼光谱特征对高脂血症有较明显的预测价值。

关键词:拉曼光谱; 高脂血症; 总胆固醇; 预测价值; 血脂

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.17.022

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2019)17-2139-04

文献标识码:A

Characteristics of serum Raman spectroscopy at different blood lipid levels and its predictive value for hyperlipidemia

YANG Chunying, YANG Mei, ZHOU Bing, ZHOU Yan,
XIONG Lijuan, CUI Lili, ZHU Jin, CAO Yongfen

(Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Guiyang University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract:**Objective** To investigate the characteristics of serum Raman spectroscopy and its predictive value for hyperlipidemia by collecting and detecting serum from healthy people. **Methods** A total of 50 patients with dyslipidemia who were treated in the hospital from August 2017 to March 2018 and 50 healthy patients of the same age were enrolled in the study. The abnormal blood lipids were detected, the prediction accuracy of the mathematical model was established by Raman spectroscopy analysis, and the Raman spectroscopy line analysis was carried out to analyze the diagnostic sensitivity and specificity. **Results** In this experiment, each sample was tested four times and homogenized. There was no significant difference in RMSEP values and correlation coefficients between the two groups using total cholesterol (TC), total protein (TP), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL), glucose (GLU) and triglyceride (TG) PLS modeling methods ($P>0.05$). At Raman shifts of 1 001, 1 153, 1 447, 1 514 and 1 656/cm, the peak intensity of Raman spectroscopy in patients with abnormal blood lipids was significantly higher than that in control samples. The prediction and diagnosis of hyperlipidemia could be made by detecting several selective Raman spectroscopy of the population. **Conclusion** Raman spectroscopy can be used to detect the difference of serum metabolites between healthy people and patients with dyslipidemia. Serum Raman spectroscopic characteristics at different lipid levels can be used as a predictor of hyperlipidemia.

Key words: Raman spectroscopy of blood lipids; hyperlipidemia; total cholesterol; predictive value; blood lipids

拉曼光谱检测是一种利用单色光照射在样品上产生非弹性散射信号并将该非弹性散射用于物质分析的手段^[1-2]。拉曼光谱可以根据分子的转动能级或振动能级以确定分子结构,是一种振动的分子光

作者简介:杨春英,女,副主任技师,主要从事检验生化研究。

本文引用格式:杨春英,杨梅,周冰,等.不同血脂水平下血清拉曼光谱特征及其对高脂血症的预测价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(17):2139-2142.

谱^[3]。随着该技术的发展,它被广泛地运用在生物、医学、化学、材料、鉴伪、考古等领域^[4]。它具有准确度高,速度快,样品不需前处理或仅仅需要很少的前处理,检测水溶液样品无损伤的优点,是一种简便、快捷的技术^[5-6]。本文探讨拉曼光谱对人体血清的检测,探究不同血脂水平下检测血清拉曼光谱特征及其对高脂血症的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 8 月至 2018 年 3 月于本院就诊的血脂异常患者 50 例以及同龄健康者(对照)50 例进行研究。本次试验每例样本检测 4 次,进行均一化处理。以 50 例血脂异常样本为对象进行研究,其中男 28 例,女 22 例;年龄 52~70 岁,平均(61.26±9.62)岁;吸烟史 14 例(28%);平均收缩压为(123.59±21.13)mm Hg,平均舒张压为(78.26±11.36)mm Hg,平均脉搏为(83.69±7.12)2 次/min;患者的病史类型中高血压病史 24 例(48.00%),糖尿病病史 16 例(32.00%),冠心病病史 9 例(18.00%)。血脂异常患者和健康者年龄、性别、病史等一般资料比较见表 1。检测血脂异常,利用拉曼光谱分析建立 PLS 数学模型预测结果精度,进行拉曼光谱谱线分析,统计分析诊断灵敏度、特异度。为防止食物对血液成分造成的干扰,样本在早饭前采集。先对患者进行抽血取样并分离血清样本,立刻分别冷藏存放于透明的玻璃样品器皿中,存放温度为-80℃,存放时间 15 d 内。本研究在得到患者及家属知情并签订同意书情况下进行,本研究获得本院伦理委员会批准实施。

表 1 两组一般资料比较

项目	血脂异常患者 (n=50)	健康者 (n=50)	t/χ^2	P
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	61.26±9.62	60.95±8.07	0.432 5	0.639 7
性别(男/女, n/n)	28/22	26/24	0.725 8	0.342 5
吸烟史[$n(\%)$]	14(28.00)	15(30.00)	0.103 7	0.763 8
血压(mm Hg, $\bar{x}\pm s$)				
收缩压	123.59±21.13	120.58±19.33	1.875 9	0.064 7
舒张压	78.26±11.36	80.47±9.46	1.632 5	0.096 8
脉搏(次/min, $\bar{x}\pm s$)	83.69±7.12	82.79±8.03	1.867 4	0.051 3
高血压病史[$n(\%)$]	24(48.00)	18(36.00)	12.965 2	0.000 2
糖尿病病史[$n(\%)$]	16(32.00)	14(28.00)	21.349 7	<0.000 1
冠心病病史[$n(\%)$]	9(18.00)	9(18.00)	0.054 7	0.803 9

1.2 试验方法 激发光采用 Ar⁺ 激光器发出激光。采用波长精度±0.01 nm 的双光栅单色仪。一个斩波器(700 Hz)和锁相放大器被用来放大拉曼信号,拉曼信号由 PMT 探测并传入计算机中。波长 532 nm,采集时间 20 s,采集次数 1 次,光谱范围 800~1 800/cm,光栅 1 800 gr/mm,10 倍物镜,50%的激光功率。光谱测量时,于单色仪和斩波器之间使用约

1 mL 的血清样本装入试管中。所得光谱导入 origin-Pro8.0 分析软件进行分析,用 origin-Pro8.0 对测得的光谱数据进行导入分析,接着通过加和平均的方式得出最后的拉曼光谱数据。

1.3 高脂血症诊断标准 主要依据血清中总胆固醇(TC)、总蛋白(TP)、低密度脂蛋白(LDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)、葡萄糖(GLU)及三酰甘油(TG)的检测情况,可将高脂血症分为高三酰甘油血症、高胆固醇血症、低高密度脂蛋白血症、混合型高脂血症^[7-8]。

1.4 统计学处理 主成分分析是常用的一种处理光谱的降维方法^[9]。通过对原始光谱矩阵数据空间的投影,只保留数个单条光谱的主成分值即可承载其中的大部分光谱信息,以方便接下来的分析判别。对取得的数据使用 SPSS21.0 软件进行分析处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清拉曼光谱分析结果 PLS 建模预测均方根误差(RMSEP)值和相关系数比较 选择常用的血清成分进行拉曼光谱分析,并通过 PLS 建模的方法预测 RMSEP 值和相关系数。两组 TC、TP、LDL、VLDL、GLU 及 TG PLS 建模的方法预测 RMSEP 值和相关系数比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 血清拉曼光谱分析结果 PLS 建模预测 RMSEP 值和相关系数比较

血清成分	研究组		对照组	
	RMSEP 值	相关系数	RMSEP 值	相关系数
TP	3.256 8	0.958 6	3.423 6	0.952 4
TC	0.523 6	0.847 6	0.528 6	0.976 5
LDL	0.654 8	0.945 8	0.635 8	0.956 7
VLDL	0.347 8	0.923 1	0.365 4	0.985 4
GLU	1.632 7	0.820 1	1.826 5	0.899 9
TG	0.723 6	0.920 9	0.702 3	0.935 6
胱抑素 C	0.862 0	0.879 2	0.832 1	0.897 3
清蛋白	0.527 3	0.882 1	0.563 2	0.905 8

2.2 光谱图 原始光谱图见图 1,归一化处理后的光谱图见图 2,健康者样本与血脂异常样本归一化处理后的对比图见图 3。健康者血清样本与血脂异常血清样本的拉曼光谱形状和趋势非常相似,在拉曼位移约 1 001、1 153、1 514/cm 处有 3 个主要的拉曼特征峰,并且荧光背景几乎相同。血脂异常样本的特征峰相较于健康者样本的拉曼位移在 949、1 001、1 153、1 347、1 514、1 577、1 611/cm 处有些偏移。在 1 001、1 153、1 447、1 514、1 656/cm 处,血脂异常的峰强显著高于健康者样本。血脂异常的样本在拉曼位移 1 261/cm 和 1 282/cm 处有较弱的特征峰出现。见图

3、表 3。之后,进行了主成分分析,对健康者样本和血脂异常样本进行区分,准确率达到 80% 以上,但仍不能完全区分开来,见图 4。

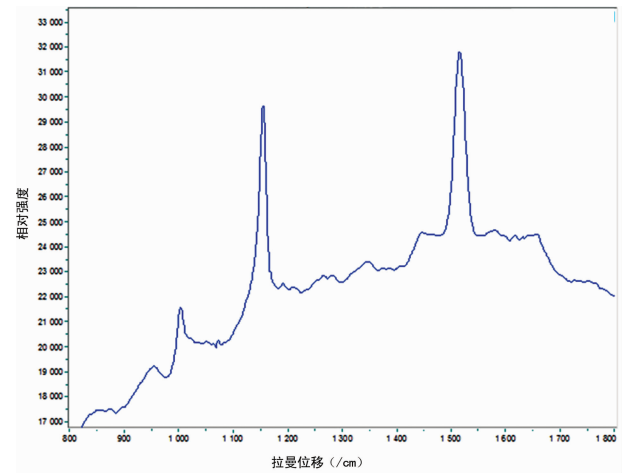


图 1 原始拉曼光谱(拉曼位移范围 800~1 800/cm)

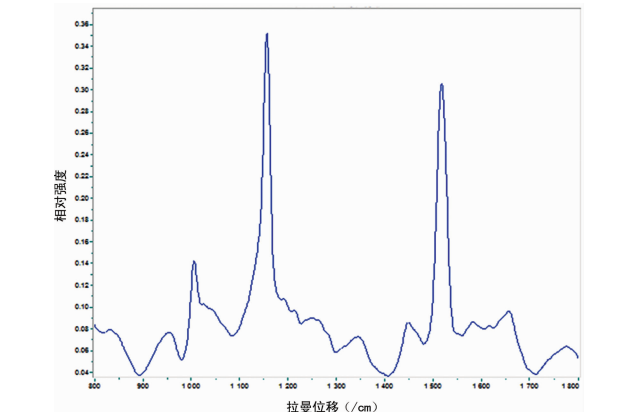


图 2 归一化之后拉曼光谱图

表 3 拉曼特征峰归属表

健康者样本		血脂异常样本		特征峰归属
拉曼位移 (/cm)	相对强度	拉曼位移 (/cm)	相对强度	
956.28	0.042	949.75	0.048	酪氨酸、苯
1 005.01	0.108	1 001.77	0.124	苯丙氨酸
1 155.22	0.317	1 153.64	0.375	β-胡萝卜素
1 212.26	0.062	1 212.26	0.051	酪氨酸、苯丙氨酸、酰胺Ⅲ
无		1 261.53	0.039	磷脂,酰胺Ⅲ
无		1 282.60	0.029	酰胺Ⅲ、α-螺旋
1 343.05	0.038	1 347.62	0.028	C-H 伸缩、色氨酸、腺嘌呤、α-螺旋、磷脂
1 447.41	0.051	1 447.41	0.059	磷脂、C-H scissor in CH2
1 517.37	0.272	1 514.41	0.370	β-胡萝卜素
1 582.04	0.052	1 577.65	0.073	蛋白质、酰胺、α-螺旋、磷脂
1 616.97	0.048	1 611.17	0.070	酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸
1 656.00	0.062	1 656.00	0.091	酰胺 I、α-螺旋、磷脂

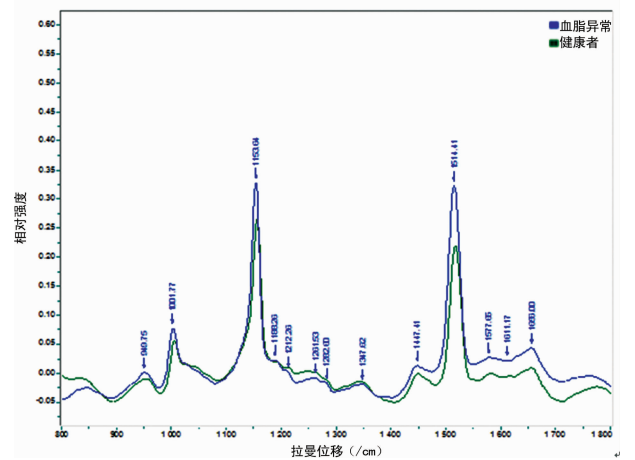


图 3 健康者血清拉曼光谱与血脂异常拉曼光谱对比图

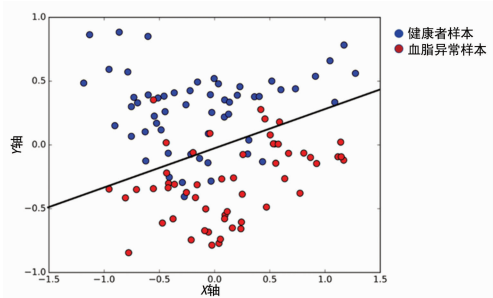


图 4 主成分分析图

3 讨 论

高脂血症已成为中老年人最常见的疾病之一^[10]。高脂血症又称为高脂蛋白血症,是一个惯用的概念^[11],主要特征包括血浆中的 TG、胆固醇和 LDL 的升高及 GDL 的降低 4 种血脂代谢紊乱^[12-13]。根据血液生化检查的结果,临床上将高脂血症可简单的分为 4 类:高胆固醇血症、高三酰甘油血症、低高密度脂蛋白血症、混合型高脂血症。根据脂蛋白代谢紊乱的原因分类可分为原发性和继发性 2 种^[14]。血脂异常本身没有太多的临床表现,主要包括沉积在眼部和真皮内等位置的脂质可引起的黄色瘤、角膜环、高脂血症眼底改变等^[15]。明显的高三酰甘油血症可以引起急性胰腺炎^[16]。血脂异常主要危害患者的心血管系统,在血管内皮沉积的脂质会导致动脉粥样硬化,从而引起脑血管疾病、冠心病和外周血管病等^[17]。因此,血脂异常的防治不可忽视,需要引起广泛的重视^[18]。

拉曼光谱是一种振动的分子光谱,可以根据分子振动的能级来确定分子的结构。单色光入射后,光子与分子相互作用,出现弹性和非弹性碰撞 2 种情况^[19]。弹性碰撞即是光子和分子相互作用时没有能量交换,频率没有发生改变,运动方向发生改变,也称为瑞利散射。非弹性碰撞是指光子与分子作用时不仅可以进行能量的交换,还可以改变运动方向,从而改变光子的入射频率,也称为拉曼散射^[20]。

本研究检测血脂异常样本 50 例,对照健康者样本 50 例。每例样本检测 4 次,进行均一化处理。健康者血清样本与血脂异常血清样本的拉曼光谱形状

和趋势非常相似,在拉曼位移约 1 001、1 153、1 514/cm 处有 3 个主要的拉曼特征峰,并且荧光背景几乎相同。血脂异常样本的特征峰相较于健康者样本的拉曼位移在 949、1 001、1 153、13 47、1 514、1 577、1 611/cm 处有些偏移。在 1 001、1 153、1 447、1 514、1 656/cm 处,血脂异常的峰强显著高于健康者样本。血脂异常的样本在拉曼位移 1 261/cm 和 1 282/cm 处有较弱的特征峰出现。之后,进行主成分分析,对健康者样本和血脂异常样本进行区分,准确率达到 80% 以上,但仍不能完全区分开来。猜测可能原因:(1)样本的个体差异。(2)因为所测得光谱的主要特征峰为 1 153/cm 和 1 514/cm 处,其归属于 β -胡萝卜素,这 2 处的特征峰不止受到血脂的影响,已知的多种疾病(肿瘤、乳腺癌等)也在这 2 处的特征峰处有别于健康者的光谱图,所以导致了样本不能完全区分开来。

4 结 论

在拉曼位移 1 001、1 153、1 447、1 514、1 656/cm 处,异常血脂的患者拉曼光谱峰强显著高于健康者样本,可以通过对人群的选择性的几处拉曼光谱的检测,来进行高脂血症的诊断和预测,从而研究其对于高脂血症的预测价值。采用拉曼光谱技术,能够在不同拉曼位移的光谱峰强检测出健康者和血脂异常患者血清中代谢产物存在信息的差异。因此,不同血脂水平下检测血清拉曼光谱特征对于高脂血症有较高的预测价值。

参考文献

- [1] 郭萍,易光辉,熊平,等.癌症患者血清的激光拉曼光谱[J].光谱学与光谱分析,2000,20(6):844-846.
- [2] 韩洪文,闫循领,李书锋,等.糖尿病人血清的表面增强拉曼光谱[J].光谱学与光谱分析,2009,29(2):399-401.
- [3] 吴俊富,郭茂田,罗荣辉,等.恶性肿瘤的激光拉曼光谱研究[J].激光杂志,2007,28(6):1-2.
- [4] 蔺蓉,陶家友,钱伟,等.胃癌血清、体外培养液拉曼光谱量效特征及构成的研究[J].中华医学杂志,2007,87(26):1848-1851.
- [5] 董海胜,张丽芬,钟悦,等.拉曼光谱结合偏最小二乘法测定血清胆固醇含量[J].光谱学与光谱分析,2013,32(5):1253-1256.
- [6] APRYATIN S A, VRZHESSINSKAYA A O, BEKETOVA N A, et al. Indicators of vitamins safety in experimental alimentary hyperlipidemia in rodents[J]. Vopr Pitan, 2017,86(1):6-16.
- [7] 郭丽,张毅,吕金燕,等.用多元分析方法研究乳腺癌血清的表面增强拉曼光谱[J].光谱学与光谱分析,2013,33(6):1553-1556.

- [8] 刘琨,吴世法,陈茂笃,等.以新型银胶为衬底小鼠血清的表面增强拉曼光谱分析[J].光谱学与光谱分析,2008,28(2):339-342.
- [9] 王虹,张少鸿.血清激光拉曼光谱鉴别肺癌、慢性阻塞性肺疾病患者及健康人的价值[J].广东医学,2015(6):884-887.
- [10] ANKUDZE B, PHILIP A, PAKKANEN T T. Ultrasensitive and recyclable superstructure of AuSiO₂@Ag wire for surface-enhanced Raman scattering detection of thiocyanate in urine and human serum[J]. Anal Chim Acta, 2019,1049:179-187.
- [11] 刘婉华,刘健,赵雪松,等.基于表面增强拉曼光谱的肝癌血清检测方法研究[J].激光杂志,2018,39(3):68-71.
- [12] STEFANOV I, BAETEN V, ABBAS O, et al. Determining milk isolated and conjugated trans-unsaturated fatty acids using fourier transform Raman spectroscopy[J]. J Agric Food Chem, 2011,59(24):12771-12783.
- [13] JAMES D T, KJELLANDER B K, SMAAL W T, et al. Thin-film morphology of inkjet-printed single-droplet organic transistors using polarized Raman spectroscopy: effect of blending TIPS-pentacene with insulating polymer[J]. ACS Nano, 2011,5(12):9824-9835.
- [14] 李自超,王欣,马冬梅,等.脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块数量的影响因素[J].西安交通大学学报(医学版),2018,39(2):292-295.
- [15] PARK S Y, PARK C. Spatially-resolved mineral identification and depth profiling on chondrules from the primitive chondrite elephant moraine 14 017 with confocal Raman spectroscopy[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2019,207:46-53.
- [16] 王虹,张少鸿.血清激光拉曼光谱在非小细胞肺癌分期中的作用[J].中国老年学杂志,2017,37(22):5626-5628.
- [17] LEE S, ANDERSON L J, PAYNE C M, et al. Structural transition in the surfactant layer that surrounds gold nanorods as observed by analytical surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Langmuir, 2011, 27(24):14748-14756.
- [18] 邵丽婷,肖瑞,王升启.基于表面增强拉曼光谱的肝病血清检测技术研究[J].军事医学,2016,40(11):888-891.
- [19] KONOROV S O, BLADES M W, TURNER R F. Non-resonant background suppression by destructive interference in coherent anti-stokes Raman scattering spectroscopy[J]. Opt Express, 2011,19(27):25925-25934.
- [20] PARK J H, KIM R S, POZUELO M, et al. Micro-Raman spectroscopy in self-catalyzed indium phosphide nanostructures: morphology and substrate effects[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2019,19(4):2285-2290.

(收稿日期:2019-01-16 修回日期:2019-03-26)