

尿微量白蛋白的可见-近红外光谱检测

李刚¹, 赵喆¹, 刘蕊^{1,2}, 王慧泉¹, 林凌¹, 张宝菊³, 吴晓荣^{3*}

1. 天津大学精密测试技术及仪器国家重点实验室, 天津 300072
2. 天津市人民医院检验学部, 天津 300121
3. 天津师范大学物理与电子信息学院, 天津 300387

摘要 尿微量白蛋白是临床上检测肾损伤最可靠的诊断指标。为实现尿微量白蛋白快速无试剂检测, 本文采用多光程方式得到 207 例尿液样品可见-近红外双波段的多光程光谱, 基于多光程光谱的非线性特性, 获得更多样品成分含量的信息。在首先进行 PLS 建模的基础上, 使用 PLS-ANN 建模方法引入非线性信息, 对样品的可见-近红外波段多光程光谱与尿微量白蛋白实际含量建立回归模型。通过对比, 使用 PLS-ANN 建模方法可得到更好地建模预测效果, 提高定量分析精度, 预测决定系数达 0.951 1, 预测标准误差为 5.02 mg·L⁻¹。研究表明, 可以在不需加入试剂的前提下, 使用多光程可见-近红外光谱较准确预测尿液微量白蛋白的含量, 为实现无试剂的方便、快捷检测尿液微量白蛋白含量以及其他成分含量奠定了基础。

关键词 尿微量白蛋白; 近红外光谱; 偏最小二乘; 人工神经网络; 多光程

中图分类号: O657.3 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)09-2412-04

引言

尿液是最易获得的判断人们生活、饮食正常与否的检验样品。从尿液的颜色、成分、状态上能分辨出身体状况、身体疾病等。尿检对于疾病的早期诊断具有重要意义。临床发现, 尿液中尿微量白蛋白(urine micro-albumin, UMALB)的含量与肾脏损伤程度密切相关。尿微量白蛋白的增加表明肾脏异常渗漏蛋白质, 也是整个血管系统发生改变的征象。近年来 UMALB 作为最敏感、可靠的肾脏早期损伤诊断指标引起了国内外学者的关注。研究表明, UMALB 含量与人体健康多种危险因素关联, 如糖尿病、高血压、肥胖、胰岛素抵抗等^[1-4]。因此 UMALB 的低成本快速检测对于多种疾病的早期诊断以及人体健康状况监测具有广阔的社会意义和应用前景。

目前, 临床上主要使用免疫比浊法尿微量白蛋白进行检测。除此之外, 放射免疫法、酶联免疫法和化学发光等方法^[5, 6]也被研究和应用于尿微量白蛋白含量分析。光谱分析方法与常规的生化分析方法相比, 具有分析速度快、无需试剂、对样品无损、成本低、节能环保等特点, 在尿液成分分析方面具有广阔的应用前景。Shaw 等使用干膜法对尿液中

尿素、肌酐、蛋白成分含量进行了近红外和中红外波段分析^[7, 8]。Dou 等^[9]以及 Dahu 等^[10]曾采用拉曼光谱法对尿液中葡萄糖、尿素、肌酐等成分的含量进行分析。这些尿液光谱分析方法使用的仪器昂贵、测量时间较长, 且未针对尿液多种蛋白中具有重大临床意义的尿微量白蛋白进行检测。刘伟玲等^[11]使用近红外傅里叶光谱仪对葡萄糖、白蛋白及肌酐单质成分固体粉末配制尿液进行建模分析, 未对实际尿样进行分析研究, 不能保证模型的普适性。

本文以多光程光谱法^[12, 13]作为一种信息获取手段, 充分利用近红外光谱所携带的信息, 得到比单一光程光谱建模得到更优的模型性能。通过操作简单、采集迅速的全自动多光程光谱采集装置, 实现尿液样品的可见波段和近红外波段的多光程光谱采集^[14]。采用偏最小二乘和引入非线性信息的偏最小二乘-人工神经网络方法, 建立实际尿样 UMALB 的定量回归模型。

1 实验部分

1.1 样品

检测实验在天津市人民医院展开, 由该院检验学部提供 248 例尿液样本。所有样本来自该院门诊及住院患者, 样品

收稿日期: 2010-10-17, 修订日期: 2011-04-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(60674111, 30973964)资助

作者简介: 李刚, 1959 年生, 天津大学精密仪器与光电子工程学院教授 e-mail: ligang59@tju.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: wu_xiaorong@sohu.com

新鲜,采集规范。从每例样本中吸取约 1 mL 尿液分装,进行多光程光谱检测。同时,各尿液样本由检验学部依据《全国临床检验操作规程》,使用美国雅培 C8000 全自动生化仪及配套试剂盒进行微量白蛋白含量定量检测。考虑生物参考区间,选择经全自动生化分析仪分析 UMALB 结果处于 0~203.0 mg·L⁻¹ 的 207 例样本作为后续建模及预测的样本集。该 207 例尿液样本的 UMALB 含量最小值为 3.54 mg·L⁻¹,最大值 173.56 mg·L⁻¹,均值 51.64 mg·L⁻¹,标准偏差值 38.78 mg·L⁻¹,分布范围和离散程度均满足需求。

1.2 仪器设备

图 1 所示为 UMALB 多光程光谱法检测装置示意图。为获得多波段光谱信息,测量同时使用美国海洋光学公司的可见和近红外波段微型光纤光谱仪。其中,USB2000 为可见光谱仪,光谱检测范围 463~1 136 nm,信噪比 250:1,共 2 048 像素;NIR512 为红外光谱仪,内置 InGaAs 探测器,光谱检测范围 855~1 737 nm,信噪比 4 000:1,共 512 个像素。光源为 GY-1 型溴钨灯,光谱范围 200~2 000 nm。样本置于底部透光的培养皿中,培养皿内径 15 mm,样本透射光经 Y 字型石英光纤同时传入两台光谱仪。多光程驱动装置为自行研制的微位移测量装置,其位移范围为 0~30 mm,精度 2.5 μm,可通过计算机直接对其进行控制。

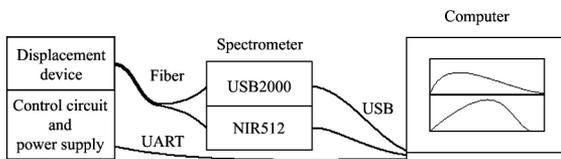


Fig 1 Schematic diagram of measurement system

1.3 光谱测量方法

获得尿液样本的多光程光谱的具体方法为:以去离子水为标准液,以投射光谱最强时的光纤探头高度作为测量所有样品的零基准位。通过在计算机上对光谱仪积分时间、平均次数、测量光程间隔、测量最大光程、测量速度等参数进行设置后,依次完成各尿液样品的可见波段和近红外波段的多光程光谱检测。测量过程中随机抽取尿液样本进行检测。可见波段 USB2000 光谱仪的积分时间设置为 5 ms,平均次数设置为 40,箱体滤波次数设置为 1。近红外 NIR512 的积分时间设置为 200 ms,平均次数设置为 10,箱体滤波次数设置为 1。综合考虑样品量和样品池大小,测量光程间隔设置为 0.20 mm,测量最大光程设置为 4.00 mm。

1.4 光谱预处理

在建模前,需要对可见波段和近红外波段两个光谱仪所采集的多光程光谱进行预处理。首先,对各样本可见波段的 21 个光程光谱进行重叠 50% 的 8 点平均平滑。然后,分别由各样本可见波段与近红外波段 21 个光程光谱求得 20 个光程的吸收谱,并将吸收谱依次相接,作为与该样本生化分析值所对应的光谱向量。

2 结果与讨论

2.1 尿液样本透射光谱

图 2 为随机抽取的 10 个被测尿液样本分别由可见和近红外波段两个光谱仪得到的多光程光谱曲线。尿液的多光程光谱曲线体现了较为明显的非线性特征。

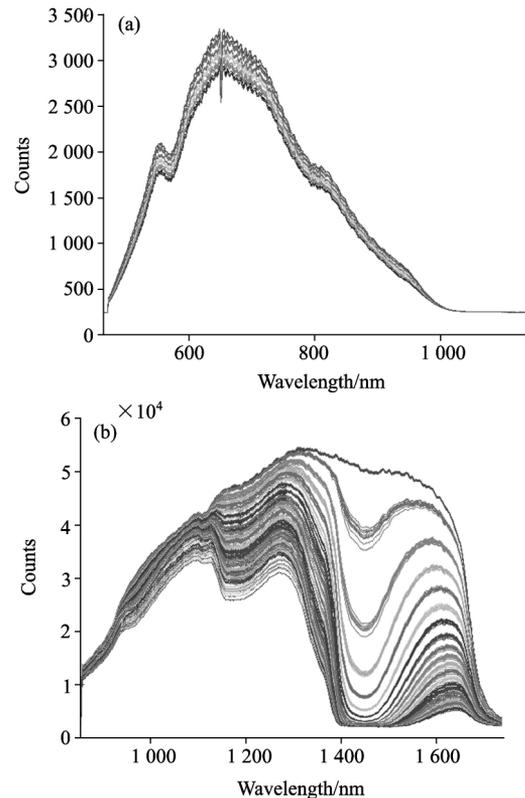


Fig 2 Multiple optical path length spectra of 10 urine samples

(a): Visible spectra; (b): Near infrared spectra

2.2 偏最小二乘回归建模

采用偏最小二乘法建立尿液样本可见—近红外双波段吸收谱和尿微量白蛋白生化分析值之间的定量回归模型。在 207 例样本中随机抽取 160 例样本作为校正集,其余 47 例样本作为预测集。最佳因子数通过逐一剔除交叉认证法确定,经计算为 13。使用校正集所得模型对预测集样本进行预测,结果如图 3 所示。预测标准误差(RMSEP)为 17.27 mg·L⁻¹,决定系数(R^2)为 0.398 8。预测效果并不理想,需要改进建模方法,提高预测精度。

2.3 偏最小二乘-人工神经网络建模

为了在偏最小二乘回归的基础上进一步提高模型质量和预测精度,使用偏最小二乘结合人工神经网络方法联合,利用人工神经网络建模的非线性特性,建立 UMALB 定量分析模型。在偏最小二乘经过交叉验证提取出 13 个主因子后,使用三层 BP(back propagation)神经网络,建立非线性模型。输入节点为 13,输出节点为 1,中间层的节点数经过反复训

练确定为 5。

图 4 为偏最小二乘—人工神经网络联合建模方法对 47 个样本的预测集的 UMALB 含量预测结果。RMSEP 为 $5.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, R^2 为 0.951 1。联合建模与偏最小二乘回归相比, 预测精度明显提高, 效果较为理想。实验结果初步表明, 偏最小二乘—人工神经网络联合建模方法比仅使用偏最小二乘建模提高了 UMALB 定量分析精度。

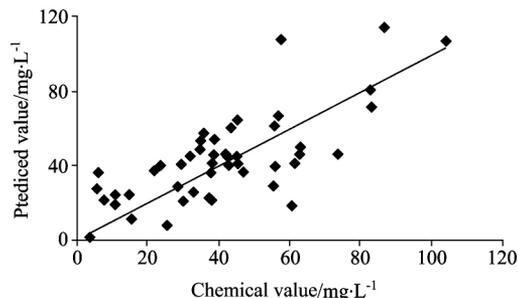


Fig 3 Correlation between chemical and predicted value by PLS modeling

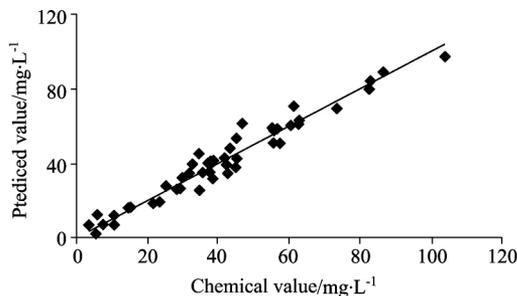


Fig 4 Correlation between chemical and predicted value by PLS-ANN modeling

3 结 论

为实现尿微量白蛋白的可见—近红外快速无试剂检测, 本文以多光程作为一种信息获取手段, 获得更多样本成分含

量的信息。在研究中首先采用偏最小二乘法对采集得到 207 例尿液样品可见—近红外双波段的多光程光谱进行建模, 该预测集的预测值与尿微量白蛋白含量误差较大。偏最小二乘—神经网络建模方法在偏最小二乘模型的基础上能够更充分的利用光谱数据的非线性部分, 得到了更好地建模预测效果, 提高定量分析精度, 预测决定系数由 0.398 8 提高到 0.951 1, 预测标准差由 $17.27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 减小为 $5.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。研究结果表明, 使用可见—近红外波段多光程光谱法, 可以在不加入试剂的前提下, 较准确预测尿液微量白蛋白的含量。从而为研究无试剂、方便、快捷检测尿液微量白蛋白含量以及其他成分含量奠定了基础。

References

- [1] Meyer T W, Bennett P H, Nelson R G. *Dabetologia*, 1999, 42(11): 1341.
- [2] Brantsma A H, Bakker S J L, de Zeeuw D, et al. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 17 (2) : 331.
- [3] Comper W D, Osicka T M, Clark M, et al. *Kidney International*, 2004, 65(5): 1850.
- [4] Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S, et al. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 1999, 19(8): 1992.
- [5] Comper W D, Jerums G, Osicka T M. *Clinical Biochemistry*, 2004, 37(2): 105.
- [6] XU Wei, WEI Yan-chun, XING Da, et al(徐 未, 魏言春, 邢 达, 等). *Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)*, 2008, 36 (1): 57.
- [7] Shaw R Anthony, Steven Kotowich, Henry H Mantsch, et al. *Clinical Biochemistry*, 1996, 29(1): 11.
- [8] Shaw R Anthony, Sarah Low-Ying, Michzel Leroux, et al. *Clinical Chemistry*, 2000, 46: 1493.
- [9] Dou X, Yamaguchi Y, Yamamoto H, et al. *Vibrational Spectroscopy*, 1996, 13: 83.
- [10] Qi Dahu, Berger Andrew J. *Applied Optics*, 2007, 46(10): 1726.
- [11] LIU Wei-ling, ZHANG Si-xiang, YU Qi-lian, et al(刘伟玲, 张思祥, 虞启琰, 等). *Analytical Instrumentation(分析仪器)*, 2004, 1: 47.
- [12] LI Gang, LIU Yu-liang, LIN Ling, et al(李 刚, 刘玉良, 林 凌, 等). *Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)*, 2007, 35 (10): 1495.
- [13] ZHU Da-zhou, JI Bao-ping, SHI Bo-lin, et al(朱大洲, 籍保平, 史波林, 等). *Journal of Infrared and Millimeter Waves(红外与毫米波学报)*, 2009, 28(5): 271.
- [14] LI Gang, ZHAO Zhe, LIU Rui, et al(李 刚, 赵 喆, 刘 蕊, 等). *Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)*, 2011, 39(4): 588.

Research on the Measurement of Urinary Albumin by Visible-Near Infrared Spectroscopy

LI Gang¹, ZHAO Zhe¹, LIU Rui^{1, 2}, WANG Hui-quan¹, LIN Ling¹, ZHANG Bao-ju³, WU Xiao-rong^{3*}

1. State Key Laboratory of Precision Measurement Technology and Instruments, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. Division of Inspection, Tianjin Union Medicine Center, Tianjin 300121, China

3. College of Physics & Electronic Information, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China

Abstract The urinary albumin (UMALB) is the most reliable diagnostic indicator of renal injury in clinical. Attempting to realize the rapid and free reagent measurement of UMALB, the visible-near infrared multiple optical path length spectra of 207 urine samples were collected. By the nonlinear characteristics of multiple optical path length spectra, more information about the component of sample contents can be obtained. The PLS model of the spectra and UMALB was firstly established. Based on it, the PLS-ANN modeling method was built to introduce nonlinear information. By contrast, the PLS-ANN modeling method can obtain a better model to improve the accuracy of quantitative analysis. The R^2 of predicted model was 0.951 1 and the RMSEP was 5.02 mg · L⁻¹. The results showed the feasibility of the visible-near infrared multiple optical path length spectroscopy technique for urinary albumin analysis. This research establishes the foundation of detecting the urinary albumin and other components free of reagent conveniently and rapidly.

Keywords Urinary albumin; Near infrared spectroscopy; Partial least square(PLS); Artificial neural network(ANN); Multiple optical path length

(Received Oct. 17, 2010; accepted Apr. 11, 2011)

* Corresponding author