

2 型糖尿病患者呼吸丙酮影响因素分析 *

陈珠英 孙美秀 龚智勇 袁 渊 赵晓萌 刘伟超 姜琛昱 王振南 李迎新 **

(中国医学科学院生物医学工程研究所, 天津 300192)

摘要 呼出气中的丙酮是糖尿病的潜在生物标志物, 本文利用基于光腔衰荡光谱(cavity ringdown spectroscopy, CRDS)技术的呼吸丙酮分析仪对 2 型糖尿病患者(type 2 diabetic, T2D)呼出气中的丙酮浓度进行定量测量, 分析丙酮与患者临床指标的关系, 探索影响呼出气中丙酮浓度的因素, 以期对糖尿病呼吸丙酮的临床应用提供参考. 利用 CRDS 技术的呼吸丙酮分析仪测量 147 名 T2D 患者(81 名男性, 66 名女性, 年龄 14~83 岁)的 512 个呼出气体样品和 52 名健康人(30 名男性, 22 名女性, 年龄 20~48 岁)的 119 个呼出气体样品. 对呼出气中的丙酮浓度与相应的血糖(blood glucose, BG)、糖化血红蛋白(glycohemoglobin A1C, A1C)、性别、年龄、身体质量指数(body mass index, BMI)、糖尿病患病年限及气体样本采集状态等指标, 进行相关性统计分析并构建丙酮的多元线性回归模型. 结果表明, 性别、气体样本采集状态、BMI、年龄、A1C 及 BG 等指标影响 T2D 患者的呼吸丙酮浓度. 健康人呼吸丙酮浓度与性别、年龄及 BMI 无相关关系. T2D 患者呼吸丙酮与 BG 及 A1C 均有弱相关关系, 相关系数分别为 0.093 和 0.1246. 男性呼吸丙酮平均体积分数(1.75×10^{-6})显著性高于女性(1.15×10^{-6}), 且男性呼吸丙酮浓度随年龄的升高而降低($R = -0.154$). 男性呼吸丙酮浓度与 BMI 呈负相关($R = -0.2$), 且 BMI < 25 的患者呼吸丙酮平均体积分数(1.75×10^{-6})高于 BMI > 25 的患者(1.25×10^{-6}). 女性呼吸丙酮浓度与患病年限呈正相关($R = 0.17$), 而男性呈负相关($R = -0.14$). 男性和女性空腹呼吸丙酮浓度均高于餐后 2 h 的呼吸丙酮浓度. 多元线性回归分析结果表明, 影响呼吸丙酮浓度的因素为: 性别($\beta = 0.374$)、气体样本采集状态($\beta = -0.289$)、A1C($\beta = 0.083$)、BG($\beta = 0.002$)、BMI($\beta = -0.046$)及年龄($\beta = -0.009$).

关键词 2 型糖尿病, 呼吸丙酮, 相关关系, 多元线性回归模型, 光腔衰荡光谱

学科分类号 O657.38

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0316

近年来, 糖尿病的发病呈现增长趋势, 预计到 2030 年全球糖尿病患者将超过 5 亿^[1]. 2010 年中国成人糖尿病流行病学报告显示, 中国糖尿病患者人数已高达 9 240 万, 是世界上糖尿病患者人数最多的国家之一. 目前糖尿病的临床诊断及监控主要依靠血样的血糖测定, 该方法疼痛易感染, 不利于糖尿病的有效监管. 而新兴的无创检测手段——呼吸分析, 为糖尿病的诊断与生理代谢监控开辟了新途径^[2-10].

呼吸丙酮是糖尿病的潜在标志物, 糖尿病患者由于胰岛素绝对或相对利用障碍导致脂肪代替葡萄糖供能, 从而使患者血液及呼吸中的丙酮浓度明显上升, 表现在糖尿病人的呼吸中有“甜蜜气味”^[11-12]. 糖尿病呼吸丙酮分析早在 20 世纪 60 年代就已开展, 并随着气相色谱技术、传感器技术及光谱技术

等气体定量检测技术的发展成为呼吸分析领域中最受关注的研究之一^[13-15]. 目前的研究表明, 1 型糖尿病患者的呼吸丙酮浓度平均值明显高于健康人, 而且一些研究表明呼吸丙酮浓度与血糖(blood glucose, BG)、糖化血红蛋白(glycohemoglobin A1C, A1C)具有线性相关关系^[7-8, 16]. 目前无创呼吸分析技术在糖尿病的临床应用中, 还面临着诸多的挑战. 其中, 糖尿病患者呼出气中丙酮浓度与血浆代谢物质(BG 和 A1C)的定量关系是研究热点之一^[16-18].

然而研究表明呼吸丙酮浓度与个体特征有

* 国家自然科学基金面上项目(81471701).

** 通讯联系人.

Tel: 022-87895026, E-mail: yingxinli2005@126.com

收稿日期: 2015-01-30, 接受日期: 2015-03-26

关^[19-20], 如性别、年龄和身体质量指数(body mass index, BMI)等. 已有文献报道了健康人呼吸丙酮与个体特征的相关关系^[11, 13, 21-25], 而糖尿病患者中, 有 90% 以上为 2 型糖尿病患者(type 2 diabetic, T2D), 但 T2D 患者呼吸丙酮浓度与个体特征关系研究的文献却十分有限^[26]. Nelson 等^[21]对 41 名健康儿童进行了研究, 结果显示随着年龄的升高, 呼吸丙酮呈降低的趋势. Turner 等^[13]在对 30 名健康人(19 名男性, 11 名女性)的 6 个月跟踪研究中发现: 男性与女性的呼吸丙酮有显著性差异, 男性呼吸丙酮平均体积分数(558×10^{-9})高于女性(406×10^{-9}); 女性呼吸丙酮浓度与 BMI 无相关性, 而男性呈负相关; 未观察到呼吸丙酮与年龄的相关性. Schwarz 等^[22]测量了 243 名健康成人与 44 名健康儿童呼吸丙酮浓度, 结果发现成人组空腹状态下, 男性与女性呼吸丙酮浓度无显著性差异, BMI 也不影响呼吸丙酮浓度, 女性丙酮浓度与年龄具有弱的正相关性. 儿童组的呼吸丙酮平均浓度低于成年组. Spaniel 等^[23-24]对健康人呼吸丙酮与年龄关系的研究结果表明, 年轻组(17~18 岁)较成人组(20~60 岁)具有更低的呼吸丙酮浓度, 但丙酮对年龄的依赖性并不明显. Kinoyama 等^[25]测量了 451 名健康大学生的呼吸丙酮, 发现呼吸丙酮与 BMI 呈负相关, 且 BMI<25 的人群呼吸丙酮浓度高于 BMI>25 的人群. Enderby 等^[11]在 200 名健康学生的呼吸丙酮测量中发现, 呼吸丙酮浓度无性别差异, 且与 BMI、年龄无相关性. Storer 等^[26]测量了 38 名 T2D 患者的呼吸丙酮, 结果发现男性呼吸丙酮体积分数(480×10^{-9})高于女性(296×10^{-9}). 迄今参与呼吸丙酮研究的人数约为 3000 人, 且大部分是健康人^[16]. 然而目前针对 T2D 患者呼吸丙酮与患者各项临床指标(包括血浆代谢物质、个体特征等指标)关系的研究很不完备, 且多为小样本研究(一般小于 40 名).

相比于呼吸检测的“金标准”——气相色谱质谱联用(gas chromatograph-mass spectrometry, GC-MS)技术, 光腔衰荡光谱(cavity ringdown spectroscopy, CRDS)技术^[8, 11, 16, 27-30]具有可与其相媲美的高检测精度(可达到 10^{-6} 甚至 10^{-9} 级), 而且成本低、体积小、响应快, 已成功地应用于呼吸气体检测. 作者在前期的研究工作中已经搭建了基于 CRDS 技术的实时在线的呼吸丙酮分析仪, 并利用 GC-MS 仪对其可靠性与重复性(基线稳定性 <0.3%)进行了检验, 该分析仪已满足大范围临床呼吸样本

测量的需要^[27]. 本文利用该 CRDS 呼吸丙酮分析仪测量来自 147 名 T2D 患者的 512 个呼吸气体样本的呼吸丙酮浓度, 分析呼吸丙酮与患者临床指标(BG、A1C、性别、年龄、BMI、患病年限及气体样本的采集状态)的相关关系, 探索影响患者呼吸丙酮浓度的因素, 以期对糖尿病呼吸丙酮分析的临床应用提供参考.

1 仪器与方法

1.1 CRDS 呼吸丙酮分析仪

CRDS 呼吸丙酮分析仪的系统包括 5 个组成部分: 激光光源模块、压控样品室、光电探测器、数据采集与处理系统、进样装置. 激光光源采用准单模 Q 开关 Nd:YAG 激光器(长春新产业光电技术有限公司, MPL-F-266nm-3uJ-13080824), 波长为 266 nm, 脉冲重复频率为 1 kHz, 单脉冲能量为 3 μ J, 激光头尺寸为 5 cm $\times$ 18.5 cm $\times$ 3.6 cm. 样品室由 50 cm 长的不锈钢腔体(内径 3.81 cm, CRD Optics Inc., U.S.)、一对反射镜架(CRD Optics Inc., U.S.)以及一对高反射镜(反射率 $R=99.956\%$, 曲率半径 $\rho=1$ m, Los Gatos Research, U.S.)组成. 样品室上有三个 1/4 英寸的接口, 其中一个为气体样本进样孔, 其他两个分别接入微型压力变送器(MKS, U.S., 870B)和真空泵(Oerlikon, German, SC5D). 为避免样品室的污染和样本残留, 每个样本测量后都采用高纯氮气(>99.99%, 天津六方气体)清洗样品室. 利用光电倍增管(photo multiplier tube, PMT, Hamamatsu, Japan, H10721)采集衰荡信号, 通过数字示波器(Tektronix, U.S., TDS3012B)进行 A/D 转换, 最后传输至计算机, 利用自行开发的集成化软件系统完成数据处理. 仪器主体光学系统搭建在 60 cm $\times$ 20 cm 的光学平板上, 整体集成在移动式小车上, 具体结构可见文献[27].

1.2 呼吸样本采集

本研究的活动和过程遵照天津市机构审查委员会通过的人体研究协议. 所有呼出气体样本均源自志愿者. 其中健康人呼出气体样本源自中国医学科学院生物医学工程研究所的 52 名健康志愿者; T2D 患者呼出气体样本源自天津医科大学代谢病医院的 147 名 T2D 住院患者. 样本采集采用聚全氟乙丙烯(fluorinated ethylene propylene, FEP)材质的呼吸样本采样袋(北京浩辰天诚环保科技), 体积为 1 L, 使用前均用高纯氮气反复冲洗 3 次. 呼吸样本采样过程: 通过讲解和演示, 指导受试者适

当吸一口气后将单次呼吸的潮气末量通过一次性吹嘴呼入采样袋. 根据 FEP 呼吸袋产品规格, 该呼吸袋可保持袋内气体稳定 6 h. 采样后 2 h 以内, 将采样袋连接至上述呼吸丙酮分析仪的进样口, 然后打开阀门, 将样本引入仪器样品室进行测量.

本文呼吸丙酮数据源自 147 名 T2D 患者的 512 个呼吸样本(143 个空腹状态下的样本和 369 个三餐后 2 h 状态下的样本)及 52 名健康人的 119 个呼吸样本(38 个空腹状态下的样本和 81 个三餐后 2 h 状态下的样本), 同时记录患者的 BG、A1C、性别、年龄、BMI、患病年限及气体样本的采集状态等指标. 空腹状态指前一天晚上 19:00 后到次日早上 7:00 未进食, 彻夜空腹 12 h.

1.3 丙酮浓度测量与分析方法

光衰减呼吸丙酮分析仪采用背景扣除法来计算丙酮体积分数^[18,28], 即把空气视为人体呼吸的背景, 交替测量真空与空气或不同呼吸样本的腔衰减时间, 由此可得空气和呼吸的有效吸收:

$$A_{\text{atm}} = \sigma(v)nd = \frac{d}{c} \left(\frac{1}{\tau_{\text{atm}}} - \frac{1}{\tau_0} \right) \quad (1)$$

$$A_{\text{breath}} = \sigma(v)nd = \frac{d}{c} \left(\frac{1}{\tau_{\text{breath}}} - \frac{1}{\tau_0} \right) \quad (2)$$

用呼吸样本的吸收减去背景空气的吸收便可得到呼吸丙酮的吸收(上限值).

$$\Delta A = A_{\text{breath}} - \bar{A}_{\text{atm}} = \sigma(v)nd \quad (3)$$

式中 τ_{atm} 、 τ_0 和 τ_{breath} 分别为空气、真空和呼吸样本的衰减时间常数; c 为光速; d 为腔镜之间的距离; A_{atm} 和 A_{breath} 分别为相同条件下(室温, 常压)空气和呼吸样本的有效吸收; n 为丙酮的绝对浓度; $\sigma(v)$ 为丙酮的吸收截面, 值为 $4.5 \times 10^{-20} \text{ cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ^[29,30]. 该仪器的检测极限为体积分数 0.02×10^{-6} (1σ 准则). 实验中假设 ΔA 均由丙酮的吸收引起, 而呼吸样本会存在瑞利散射等干扰因素, 因而测得的丙酮浓度为其浓度的上限值. 该方法对人体呼吸丙酮检测的适用性、特异性和有效性已有相关文献报道^[18,28-29].

本研究采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析. 统计数据用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示其分布. 相关性分析中, 用 r 表示相关系数, 符合正态分布的用 Pearson 相关进行分析, 不符合正态分布的运用秩相关(Spearman 相关)分析. 差异性分析运用 Mann-Whitney U 检验. 通过拟合多元线性回归模型的分析方法, 探索丙酮浓度的影响因素. $P < 0.05$ 为结果有显著的统计学意义.

2 结果与讨论

2.1 健康人呼吸丙酮

52 名健康人呼吸丙酮数据呈正态分布, 其平均体积分数为 $(1.10 \pm 0.49) \times 10^{-6}$, 分布范围为 $0.08 \times 10^{-6} \sim 1.96 \times 10^{-6}$ (图 1a). 统计分析发现, 健康人呼吸丙酮体积分数与血糖呈负相关, 其线性拟合结果为: $y = 2.01 - 0.009x$ ($R = -0.27$, $P < 0.05$, 图 2a). 男性与女性的呼吸丙酮体积分数无显著性差异 ($(1.08 \pm 0.44) \times 10^{-6}$ vs. $(1.11 \pm 0.52) \times 10^{-6}$, $P = 0.47$), 呼吸丙酮与 BMI、年龄无相关关系. 空腹状态下的气体样本呼吸丙酮体积分数 ($(1.26 \pm 0.34) \times 10^{-6}$) 高于餐后 2 h 的气体样本呼吸丙酮体积分数 ($(1.02 \pm 0.53) \times 10^{-6}$), 二者具有统计学差异 ($P < 0.05$).

空腹时人体处于饥饿状态, 体内血糖供应不足, 主要依靠脂质代谢供能, 呼吸丙酮浓度较高; 而餐后人体处于饱腹状态, 体内血糖浓度较高, 主要依靠糖代谢供能而不是脂质, 呼吸丙酮浓度较低. 故不同采集状态下的呼出气体丙酮体积分数有显著性差异. 健康人呼吸丙酮浓度与性别、年龄及 BMI 无相关关系, 此结果与 200 名健康人呼吸丙酮分析的研究结果一致^[11].

2.2 T2D 患者呼吸丙酮

147 名 T2D 患者呼吸丙酮体积分数数据分布如图 1b 所示. 其丙酮数据呈非正态分布, 平均体积分数为 $(1.47 \pm 1.50) \times 10^{-6}$, 高于 52 名健康人呼吸丙酮体积分数, 但二者无统计学差异 ($P = 0.41$); 分布范围为 $0.03 \times 10^{-6} \sim 19.78 \times 10^{-6}$, 比健康人呼吸丙酮分布范围广, 也比前人报道的 T2D 患者呼吸丙酮浓度的分布范围广^[26,31]. 本研究结果提示, 一些

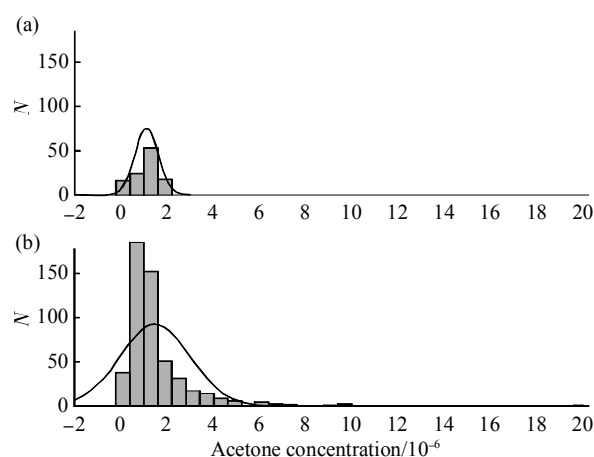


Fig. 1 Histogram of the distribution of breath acetone concentration

(a) 52 healthy subjects. (b) 147 T2D subjects.

T2D 患者呼吸丙酮浓度偏离正常人的呼吸丙酮浓度范围^[18]. 迄今为止, T2D 患者呼吸丙酮平均浓度是否高于健康人呼吸丙酮平均浓度尚无定论^[16], 此方面研究还需更大样本的验证.

2.2.1 呼吸丙酮与 BG 和 A1C 的关系

呼吸丙酮与 BG 和 A1C 均具有正相关关系, 其线性拟合结果分别为: $y=0.99+0.003x$ ($R=0.093$, $P<0.05$, 图 2), $y=0.56+0.1x$ ($R=0.1246$, $P<0.05$, 图 3). 迄今为止, T2D 患者呼吸丙酮和血糖、糖化血红蛋白的关系尚无统一定论^[8, 16, 26, 31], 尽管本研究中发现 T2D 患者的呼吸丙酮浓度与血糖和糖化血红蛋白均具有弱相关关系, 但研究表明, 呼吸丙酮浓度也与患者的体征、气体样本采集状态, 甚至可能与本文未分析到的饮食及运动有关^[26, 32]. 实现糖尿病呼吸丙酮的临床应用, 需要建立在理解糖尿病患者呼吸丙酮浓度与患者各项临床指标关系的基础上.

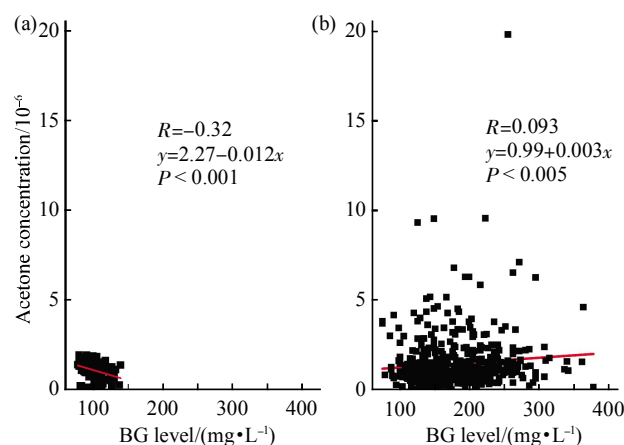


Fig. 2 Breath acetone concentration versus BG level
(a) 52 healthy subjects. (b) 147 T2D subjects.

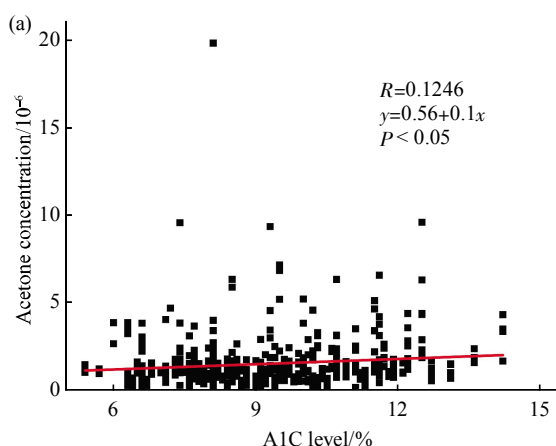


Fig. 3 Breath acetone concentration versus A1C level in T2D patients

2.2.2 呼吸丙酮与性别、年龄及 BMI 的关系

Mann-Whitney U 检验结果如图 4 所示, 男性呼吸丙酮体积分数 $((1.75 \pm 1.85) \times 10^{-6})$ 高于女性 $((1.15 \pm 0.81) \times 10^{-6})$, 结果有显著性差异 ($P<0.05$), 此结果与文献报道^[13, 26, 33]相符. 呼吸丙酮主要来源于脂类分解产生的丙酮. 它进入血液, 通过肺部血气屏障进入肺泡从而呼出体外. 故男性肺活量较大可能使呼出气体中的丙酮浓度较女性高^[33]; 且男性体内平均耗能较高, 脂质代谢较旺盛, 也可能使其呼出气体中的丙酮浓度较高.

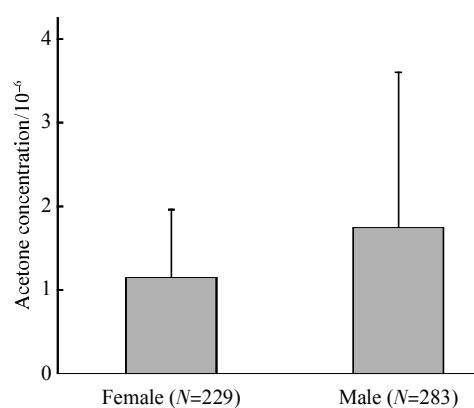


Fig. 4 Gender difference of breath acetone concentration in T2D patients

T2D 患者呼吸丙酮浓度随年龄的升高呈下降趋势, 但二者的相关关系并不明显 ($R=-0.08$, $P=0.06$), 进一步分析发现, 女性呼吸丙酮浓度与年龄无相关关系 ($R=-0.06$, $P=0.35$, 图 5a), 男性呼吸丙酮浓度与年龄呈负相关, 其线性拟合结果为:

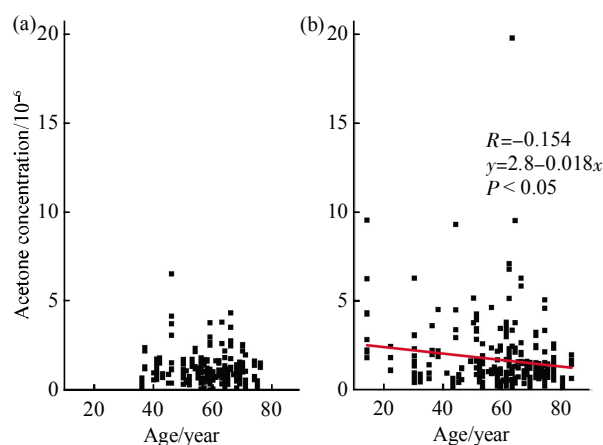


Fig. 5 Correlation of breath acetone concentration with age in T2D patients
(a) Female. (b) Male.

$y=2.8-0.018x$ ($R=-0.154$, $P<0.05$, 图 5b). 本研究中 90% 以上的患者年龄在 40~80 岁, 增加 40 岁以下患者的样本量有助于更全面地研究 T2D 患者呼吸丙酮浓度与患者年龄的关系.

呼吸丙酮浓度和 BMI 有负相关关系($R=-0.15$, $P<0.05$), 而女性呼吸丙酮浓度与 BMI 无相关关系($R=-0.06$, $P=0.39$, 图 6a), 男性呼吸丙酮浓度与 BMI 呈负相关, 其线性拟合结果为: $y=4.43-0.1x$ ($R=-0.2$, $P<0.05$, 图 6b). 对 BMI 分组比较, 结果显示 BMI<25 的患者呼吸丙酮体积分数($(1.75\pm1.92)\times10^{-6}$)显著性高于 BMI>25 的患者($(1.25\pm1.12)\times10^{-6}$). 按性别分组分析发现, 女性患者中 BMI<25 的呼吸丙酮体积分数($(1.15\pm0.67)\times10^{-6}$)与 BMI>25 的患者呼吸丙酮体积分数($(1.14\pm0.92)\times10^{-6}$)无统计学差异($P=0.15$, 图 7a), 而在男性患者中 BMI<25 的呼

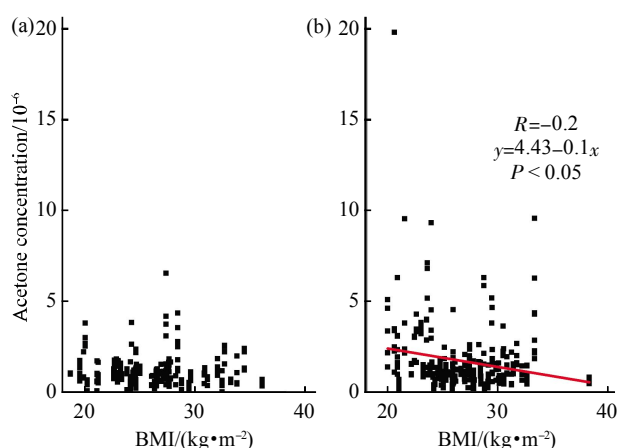


Fig. 6 Correlation of breath acetone concentration with BMI in T2D patients
(a) Female. (b) Male.

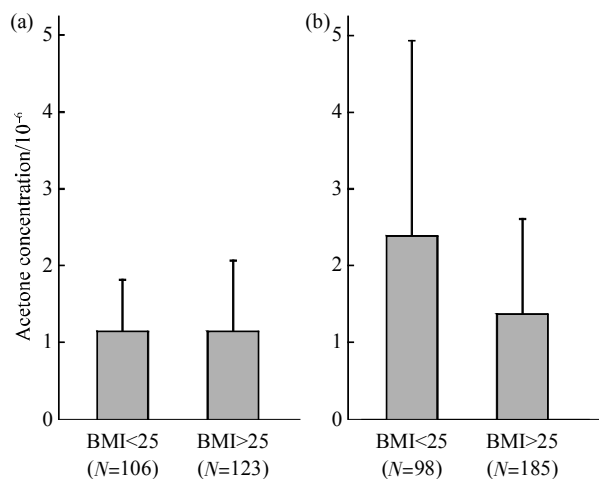


Fig. 7 Breath acetone concentration in T2D patients with BMI under 25 or BMI over 25
(a) Female. (b) Male.

吸丙酮体积分数明显高于 BMI>25 的呼吸丙酮体积分数($(2.39\pm2.53)\times10^{-6}$ vs. $(1.37\pm1.23)\times10^{-6}$, $P<0.001$, 图 7b). 此结果反映了肥胖患者体内脂质代谢较弱, 呼吸丙酮浓度较低^[34]. 提示非肥胖患者酮症病情较肥胖患者的酮症病情发展更快^[35].

本研究首次大样本地分析了 T2D 患者呼吸丙酮浓度与体征的关系. 研究结果发现: T2D 患者的呼吸丙酮浓度有性别差异, 男性呼吸丙酮浓度高于女性; BMI 越高的患者, 其呼吸丙酮浓度越低; BMI<25 的患者呼吸丙酮浓度明显高于 BMI>25 的患者.

2.2.3 呼吸丙酮与患者患病年限和气体样本采集状态的关系

纳入呼吸丙酮的全部数据分析发现呼吸丙酮浓度和患病年限无相关关系($R=0.03$, $P=0.46$). 而进行性别分组后发现女性呼吸丙酮浓度与患病年限有正相关关系, 其线性拟合结果为: $y=0.914+0.02x$ ($R=0.07$, $P<0.05$, 图 8a). 男性呼吸丙酮浓度与患病年限呈负相关, 其线性拟合结果为: $y=2.08-0.03x$ ($R=-0.14$, $P<0.05$, 图 8b). 对比 143 个空腹状态和 369 个餐后 2 h 状态采集的气体样本, 发现空腹呼吸丙酮体积分数($(1.73\pm2.14)\times10^{-6}$)高于餐后 2 h 的呼吸丙酮体积分数($(1.38\pm1.16)\times10^{-6}$), 但二者无统计学差异($P=0.12$). 以性别分析呼吸丙酮浓度与气体样本采集状态的关系发现: 女性与男性空腹呼吸丙酮体积分数均高于餐后 2 h 的呼吸丙酮体积分数(女性: $(1.21\pm0.72)\times10^{-6}$ vs. $(1.12\pm0.85)\times10^{-6}$, $P<0.05$, 图 9a; 男性: $(2.15\pm2.74)\times10^{-6}$ vs. $(1.59\pm1.34)\times10^{-6}$, $P<0.001$, 图 9b).

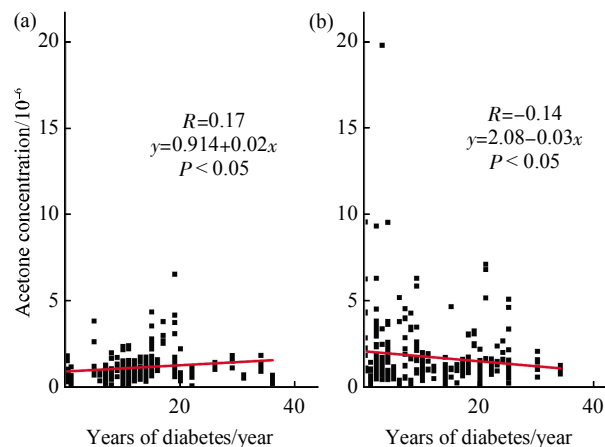


Fig. 8 Correlation of breath acetone concentration with years of diabetes in T2D patients
(a) Female. (b) Male.

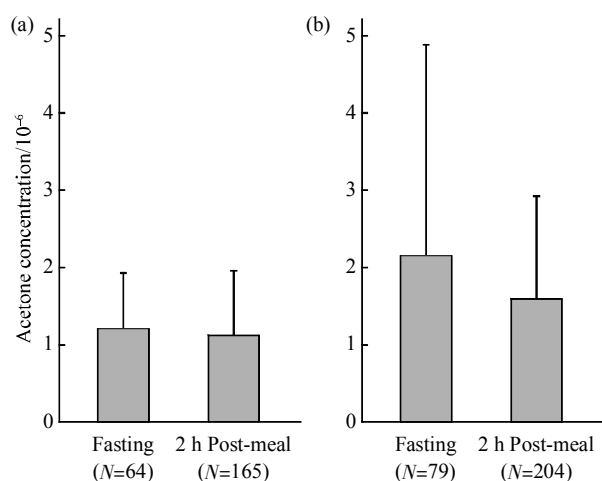


Fig. 9 Breath acetone concentration in T2D patients under different breath samples' collection conditions

(a) Female. (b) Male.

本研究中糖尿病患者空腹呼吸丙酮浓度高于餐后 2 h 的呼吸丙酮浓度, 但二者无统计学差异; 而按性别分组分析发现男性与女性空腹和餐后呼吸丙酮浓度均具有统计学差异。故在分析呼吸丙酮浓度的影响因素时, 不能单因素地分析某一指标与呼吸丙酮浓度的关系而忽略影响因素间的协同作用。因此, 下文将建立呼吸丙酮浓度的多元线性回归模型, 纳入各项指标以综合分析影响呼吸丙酮浓度的因素。

2.3 呼吸丙酮浓度的多元线性回归模型

本文采用逐步回归方式, 以 T2D 患者呼吸丙酮浓度(将非正态分布的丙酮数据转换为正态分布)为因变量, 以患者的 BG、A1C、性别(赋值为: 0 女、1 男)、年龄、BMI、患病年限和呼吸样本采集状态(赋值为: 0 空腹、1 餐后 2 h)等指标为自变量拟合呼吸丙酮浓度的多元线性回归模型来分析影响呼吸丙酮浓度的因素。呼吸丙酮多元线性回归分析结果如表 1 所示。拟合出的回归模型是有效的($F=12.46$, $P<0.0001$)。从模型中可以看出: A1C、性别、BMI、年龄、气体采集状态及 BG 是呼吸丙酮体积分数的影响因素, 其中性别($\beta=0.374$, $P<0.0001$)及气体采集状态($\beta=-0.289$, $P=0.0003$)是呼吸丙酮浓度主要影响因素。呼吸丙酮多元线性回归分析结果支持了上文对呼吸丙酮与患者各项临床指标关系的分析结果: 男性呼吸丙酮浓度高于女性; 空腹呼吸丙酮浓度高于餐后 2 h 的呼吸丙酮体积分数; 呼吸丙酮体积分数随着 A1C 和 BG 的升高而升高, 随着 BMI 和年龄的升高有降低的趋势。

Table 1 Multiple linear regression analysis of measured variables

	β	SE	t	P
Intercept	0.603	0.436	1.383	0.167
A1C	0.083	0.023	3.557	<0.0001
Gender	0.374	0.084	4.477	<0.0001
BMI	-0.046	0.011	-4.232	<0.0001
Age	-0.009	0.003	-2.783	0.006
Breath samples' collection condition	-0.289	0.098	-2.956	0.003
BG	0.002	0.001	2.330	0.020

值得注意的是本研究中的糖尿病患者大都接受胰岛素或口服降糖药物的治疗, 故本研究中的结果仅适用于病情受控制的糖尿病患者, 病情未受控制的糖尿病患者呼吸丙酮情况还有待研究。此外患者的饮食、体育锻炼及是否使用胰岛素等因素也可能会影响呼吸丙酮浓度^[27, 33]。理论上, 胰岛素缺乏或具有胰岛素抵抗的患者往往会增加脂肪消耗, 增高呼出气中的丙酮浓度, 故呼吸丙酮浓度与患者的胰岛素水平及胰岛素抵抗情况的关系也有待验证。

3 结 论

CRDS 呼吸丙酮分析仪具有良好的检测精度与长期运行的稳定性, 成功地用于大量临床呼吸样本的测量。本文利用自行搭建的实时在线的 CRDS 呼吸丙酮分析仪, 测量了来自 52 名健康人的 119 个呼出气体样本和 147 名 T2D 患者的 512 个呼出气体样本, 分析了呼吸丙酮与患者的 BG、A1C、性别、年龄、BMI、患病年限及气体样本采集状态等临床指标的关系, 并对呼吸丙酮浓度进行多元线性回归分析, 结果表明: a. 健康人呼吸丙酮浓度受气体样本采集状态的影响, 而与个体特征(性别、年龄及 BMI)无相关关系; b. T2D 患者呼吸丙酮浓度与患者的 BG 和 A1C 呈弱相关关系; c. 男性患者呼吸丙酮浓度显著性高于女性; d. 男性患者的呼吸丙酮浓度与年龄呈负相关; e. BMI<25 的患者呼吸丙酮浓度明显高于 BMI>25 的患者; f. 性别、气体样本采集状态、A1C、BMI、年龄及 BG 等指标影响患者的呼吸丙酮浓度。因此, 在糖尿病呼吸丙酮分析的临床应用中应考虑呼吸丙酮浓度与这些指标的关系, 并进一步分析呼吸丙酮浓度与患者其他临床信息的关系。是否及如何实现糖尿病呼吸丙酮分析的临床应用需要更深入地研究和挖掘。

致谢 感谢实验中无偿贡献呼出气体样本的志愿者; 感谢对临床实验给予支持与帮助的天津医科大学代谢病医院的医护人员.

参 考 文 献

- [1] Hoey H, Mlinac A, Tran C T, *et al.* 5(th) Annual symposium on self-monitoring of blood glucose (SMBG) applications and beyond, May 3-5, 2012, Dublin, Ireland. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2012, **14**(12): 1155-1173
- [2] Sulway M, Malins J. Acetone in diabetic ketoacidosis. *The Lancet*, 1970, **296**(7676): 736-740
- [3] Galassetti P R, Novak B, Nemet D, *et al.* Breath ethanol and acetone as indicators of serum glucose levels: an initial report. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2005, **7**(1): 115-123
- [4] Minh T D C, Blake D R, Galassetti P R. The clinical potential of exhaled breath analysis for diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2012, **97**(2): 195-205
- [5] Turner C. Potential of breath and skin analysis for monitoring blood glucose concentration in diabetes. 2011
- [6] Minh T D, Oliver S R, Ngo J, *et al.* Noninvasive measurement of plasma glucose from exhaled breath in healthy and type 1 diabetic subjects. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2011, **300**(6): E1166-E1175
- [7] Turner C, Walton C, Hoashi S, *et al.* Breath acetone concentration decreases with blood glucose concentration in type I diabetes mellitus patients during hypoglycaemic clamps. *Journal of Breath Research*, 2009, **3**(4): 046004
- [8] Wang C, Mbi A, Shepherd M. A study on breath acetone in diabetic patients using a cavity ringdown breath analyzer exploring correlations of breath acetone with blood glucose and glycohemoglobin A1C. *Sensors Journal, IEEE*, 2010, **10**(1): 54-63
- [9] Murtz M. Breath diagnostics using laser spectroscopy. *Optics and Photonics News*, 2005, **16**(1): 30-35
- [10] Manolis A. The diagnostic potential of breath analysis. *Clinical Chemistry*, 1983, **29**(1): 5-15
- [11] Enderby B, Lenney W, Brady M, *et al.* Concentrations of some metabolites in the breath of healthy children aged 7-18 years measured using selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS). *Journal of Breath Research*, 2009, **3**(3): 036001
- [12] Cao W, Duan Y. Breath analysis: potential for clinical diagnosis and exposure assessment. *Clin Chem*, 2006, **52**(5): 800-811
- [13] Turner C, Spanel P, Smith D. A longitudinal study of ammonia, acetone and propanol in the exhaled breath of 30 subjects using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS. *Physiological Measurement*, 2006, **27**(4): 321-337
- [14] Rooth G, stenson S. Acetone in alveolar air, and the control of diabetes. *The Lancet*, 1966, **288**(7473): 1102-1105
- [15] Levey S, Balchum O J, Medrano V. Studies of metabolic products in expired air. II. Acetone. *J Lab Clin Med*, 1964, **63**(4): 574-584
- [16] Wang Z, Wang C. Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements. *Journal of Breath Research*, 2013, **7**(3): 037109
- [17] Julie E, Tom B, Clare M, *et al.* Comparison of breath acetone, with blood glucose and blood ketones in children and adolescents with type 1 diabetes. *J Breath Res*, 2014, **8**(4): 046010
- [18] Wang C, Mbi A, Shepherd M. A study on breath acetone in diabetic patients using a cavity ringdown breath analyzer: Exploring correlations of breath acetone with blood glucose and glycohemoglobin A1C. *Sensors Journal, IEEE*, 2010, **10**(1): 54-63
- [19] Smith D, Spanel P, Fryer A A, *et al.* Can volatile compounds in exhaled breath be used to monitor control in diabetes mellitus? *Journal of Breath Research*, 2011, **5**(2): 022001
- [20] Dalton P, Gelperin A, Preti G. Volatile metabolic monitoring of glycemic status in diabetes using electronic olfaction. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2004, **6**(4): 534-544
- [21] Nelson N, Lagesson V, Nosratabadi A R, *et al.* Exhaled isoprene and acetone in newborn infants and in children with diabetes mellitus. *Pediatric Research*, 1998, **44**(3): 363-367
- [22] Schwarz K, Pizzini A, Arendacka B, *et al.* Breath acetone—aspects of normal physiology related to age and gender as determined in a PTR-MS study. *Journal of Breath Research*, 2009, **3**(2): 027003
- [23] Spanel P, Dryahina K, Smith D. Acetone, ammonia and hydrogen cyanide in exhaled breath of several volunteers aged 4-83 years. *Journal of Breath Research*, 2007, **1**(1): 011001
- [24] Spanel P, Dryahina K, Smith D. The concentration distributions of some metabolites in the exhaled breath of young adults. *Journal of Breath Research*, 2007, **1**(2): 026001
- [25] Kinoyama M, Nitta H, Watanabe A, *et al.* Acetone and isoprene concentrations in exhaled breath in healthy subjects. *Journal of Health Science*, 2008, **54**(54): 471-477
- [26] Storer M, Dummer J, Lunt H, *et al.* Measurement of breath acetone concentrations by selected ion flow tube mass spectrometry in type 2 diabetes. *Journal of Breath Research*, 2011, **5**(4): 046011
- [27] 龚智勇, 孙美秀, 姜琛昱, 等. 基于光腔衰荡光谱的呼吸丙酮分析仪设计与实现. *国际生物医学工程杂志*, 2014, **37**(2): 93-97
Gong Z Y, Sun M X, Jian C Y, *et al.* *International Journal of Biomedical Engineering*, 2014, **37**(2): 93-97
- [28] Wang C, Surampudi A B. An acetone breath analyzer using cavity ringdown spectroscopy: an initial test with human subjects under various situations. *Measurement Science and Technology*, 2008, **19**(10): 105604
- [29] Wang C, Sahay P. Breath analysis using laser spectroscopic techniques: breath biomarkers, spectral fingerprints, and detection limits. *Sensors (Basel)*, 2009, **9**(10): 8230-8262
- [30] Sahay P, Scherrer S T, Wang C. Measurements of the weak UV absorptions of isoprene and acetone at 261-275 nm using cavity ringdown spectroscopy for evaluation of a potential portable ringdown breath analyzer. *Sensors (Basel)*, 2013, **13**(7): 8170-8187
- [31] Guo D, Zhang D, Zhang L, *et al.* Non-invasive blood glucose monitoring for diabetics by means of breath signal analysis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2012, **173**: 106-113
- [32] Libardoni M, Stevens P, Waite J H, *et al.* Analysis of human breath samples with a multi-bed sorption trap and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC × GC). *Journal of*

- Chromatography B, 2006, **842**(1): 13–21
- [33] Dummer J F, Storer M K, Hu W P, *et al.* Accurate, reproducible measurement of acetone concentration in breath using selected ion flow tube-mass spectrometry. *Journal of Breath Research*, 2010, **4**(4): 046001
- [34] Crofford O B, Mallard R E, Winton R, *et al.* Acetone in breath and blood. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 1977, **88**: 128–139
- [35] Kundu S K, Bruzek J A, Nair R, *et al.* Breath acetone analyzer: diagnostic tool to monitor dietary fat loss. *Clinical Chemistry*, 1993, **39**(1): 87–92

Influencing Factors on Breath Acetone in Type 2 Diabetic Patients*

CHEN Zhu-Ying, SUN Mei-Xiu, GONG Zhi-Yong, YUAN Yuan, ZHAO Xiao-Meng,
LIU Wei-Chao, JIANG Chen-Yu, WANG Zhen-Nan, LI Ying-Xin**

(*Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Science, Tianjin 300192, China*)

Abstract This paper explores the quantitative correlation between diabetes and breath acetone and analyzes the factors influencing breath acetone concentration. It aims to provide reference values for the application of breath acetone analysis in diabetic testing. We utilized a pilot-scale breath acetone analyzer based on the cavity ringdown spectroscopy (CRDS) technique to conduct breath tests with 512 breath samples from 147 type 2 diabetic patients (81 male, 66 female, age 14~83 years) and 119 breath samples from 52 healthy individuals (30 male, 22 female, age 20~48 years). Relations between breath acetone and blood glucose (BG) and glycohemoglobin A1C (A1C) and several other clinical indices, such as gender, age, Body Mass Index (BMI), years of diabetes and breath samples' collection conditions were investigated. The multi-variation linear regression model was also constructed to explore the influencing factors of breath acetone. No correlations were observed between breath acetone and gender, age or BMI in 52 healthy people tested. Breath acetone concentration in the T2D subjects studied in this work was correlated with both BG ($R=0.093$) and A1C levels ($R=0.1246$). Breath Acetone concentration was significantly higher in male subjects (1.75×10^{-6}) than female subjects (1.15×10^{-6}), and male subjects' breath acetone was clearly increased with decreasing age ($R=-0.154$). Besides, breath acetone concentration was significantly correlated inversely with BMI ($R=-0.2$) in male subjects, and significantly higher in subjects with BMI under 25 (1.75×10^{-6}) than obese subjects with BMI over 25 (1.25×10^{-6}). Breath acetone was correlated positively with years of diabetes in female subjects ($R=0.17$). Whereas, negatively correlated in male subjects ($R=-0.14$). Furthermore, there were variations in relation to breath samples' collection conditions in both male and female subjects. Multi-variation analysis showed that gender ($\beta=0.374$), A1C ($\beta=0.083$), BG ($\beta=0.002$), breath samples' collection conditions ($\beta=-0.289$), BMI ($\beta=-0.046$) and age ($\beta=-0.009$) affect breath acetone concentrations. In conclusion, breath acetone concentration was correlated with gender, breath samples' collection conditions, BMI, age, A1C and BG.

Key words type 2 diabetes, breath acetone, correlation, multi-variation linear regression model, cavity ringdown spectroscopy

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0316

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China(81471701).

**Corresponding author.

Tel: 86-22-87895026, E-mail: yingxinli2005@126.com

Received: January 30, 2015 Accepted: March 26, 2015