(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114761794 A
(43)申请公布日 2022.07.15

(21)申请号 202080078823.X
(22)申请日 2020.10.09
(30)优先权数据
62/914,294 2019.10.11 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.05.12
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/055020 2020.10.09
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/072222 EN 2021.04.15
(71)申请人 加利福尼亚大学董事会
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 B·J·库斯
(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所 11313
专利代理师 王珺 段丹辉
(51)Int.Cl.
G01N 30/72(2006.01)
G01N 33/48(2006.01)
G01N 33/50(2006.01)

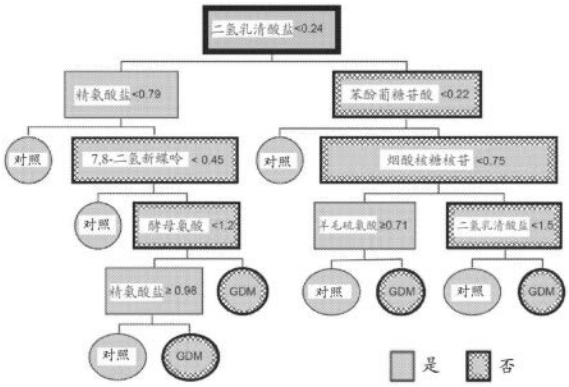
权利要求书3页 说明书19页 附图3页

(54)发明名称

妊娠糖尿型病症的代谢谱筛查

(57)摘要

本文描述了用于筛查、检测和治疗糖尿型病症，包括糖尿病和妊娠糖尿病(GDM)的方法、材料、试剂盒、装置和分析。测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量，接着将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较；以及当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时，将受试者识别为易患或患有糖尿型病症。还提供了当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时治疗受试者的糖尿型病症的方法。



CN 114761794 A

1.一种筛查受试者对糖尿型病症的易感性的方法,所述方法包括:

(a)测量从所述受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;

(b)将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较;

(c)当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时,将受试者识别为易患糖尿型病症;

其中所述多种代谢标志物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种:精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸。

2.一种检测受试者的糖尿型病症的方法,所述方法包括:

(a)测量从所述受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;

(b)将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较;

(c)当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时,将受试者识别为患有糖尿型病症;

其中所述代谢标志物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种:精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸。

3.一种治疗受试者的糖尿型病症的方法,所述方法包括:

(a)测量从所述受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;

(b)将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较;

(c)当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时,治疗所述受试者的糖尿型病症;

其中所述代谢标志物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种:精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸。

4.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述标志物是二氢乳清酸盐的减少和精氨酸盐、7,8-二氢新蝶呤和酵母氨酸的增加的组合。

5.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸和烟酸核糖核苷的增加的组合。

6.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、烟酸核糖核苷的增加和羊毛硫氨酸的减少的组合。

7.如权利要求4所述的方法,其中所述多种代谢标志物包括以下中的每一种:二氢乳清酸盐、精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸。

8.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中将受试者识别为患有糖尿型病症是根据图1中描绘的分类树确定的。

9.如权利要求8所述的方法,其中所述参考水平是图1的分类树中所示的那些。

10.如权利要求4至9中任一项所述的方法,其中所述代谢标志物进一步包括一种或多种选自由以下组成的组的额外标志物:多巴胺、辛酰肉碱(c8)、3-甲基戊二酸/2-甲基戊二酸和/或异柠檬酸内酯;并且其中所述额外标志物的增加指示糖尿型病症。

11.如权利要求3所述的方法,其中所述治疗包括饮食改变、施用口服降血糖药或胰岛

素疗法。

12.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述测量包括色谱法或光谱法。

13.如权利要求12所述的方法,其中所述色谱法是气相色谱法或液相色谱法。

14.如权利要求12所述的方法,其中所述光谱法是质谱法。

15.如权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者怀孕6-40周。

16.如权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者是产后的。

17.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述糖尿型病症是糖尿病。

18.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中测试样品是尿液。

19.如权利要求18所述的方法,其中所述代谢标志物是渗透压标准化的。

20.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中使用多变量统计分析和/或数学方法来确定所述标志物何时增加或减少。

21.一种筛查受试者对糖尿型病症的易感性的方法,所述方法包括:

(a)测量从所述受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;

(b)将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较;

(c)当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时,将受试者识别为易患糖尿型病症;

其中所述多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。

22.一种检测受试者的糖尿型病症的方法,所述方法包括:

(a)测量从所述受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;

(b)将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较;

(c)当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时,将受试者识别为患有糖尿型病症;

其中所述代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。

23.一种治疗受试者的糖尿型病症的方法,所述方法包括:

(a)测量从所述受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;

(b)将所述测试样品中存在的所述代谢标志物的量与所述标志物的参考水平进行比较;

(c)当所述测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于所述参考水平增加或减少时,治疗所述受试者的糖尿型病症;

其中所述多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。

24.如权利要求21至23中任一项所述的方法,其中所述标志物是1,5-脱水葡萄糖醇和/或高肌肽的减少和3-羟基丁酸酯和/或3-羟基十二烷二酸酯的增加的组合。

25.如权利要求24所述的方法,其中所述多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯中的每一种。

26.如前述权利要求中任一项所述的方法，其中将受试者识别为患有糖尿型病症是根据图2中描绘的分类树确定的。

27.如权利要求26所述的方法，其中所述参考水平是图2的分类树中所示的那些。

28.如权利要求23所述的方法，其中所述治疗包括饮食改变、施用口服降血糖药或胰岛素疗法。

29.如权利要求21至28中任一项所述的方法，其中所述测量包括色谱法或光谱法。

30.如权利要求29所述的方法，其中所述色谱法是气相色谱法或液相色谱法。

31.如权利要求29所述的方法，其中所述光谱法是质谱法。

32.如权利要求21所述的方法，其中所述受试者怀孕6-40周。

33.如权利要求21所述的方法，其中所述受试者是产后的。

34.如权利要求21至33中任一项所述的方法，其中所述糖尿型病症是糖尿病。

35.如权利要求21至34中任一项所述的方法，其中测试样品是尿液。

36.如权利要求35所述的方法，其中所述代谢标志物是渗透压标准化的。

37.如权利要求21至36中任一项所述的方法，其中使用多变量统计分析和/或数学方法来确定所述标志物何时增加或减少。

38.一种包含至少一个程序的非暂时性计算机可读介质，当所述程序由包括至少一个处理器的计算装置执行时，使得所述计算装置执行如权利要求1至37中任一项所述的方法。

39.如权利要求38所述的介质，其中所述至少一个程序含有用于使所述至少一个处理器执行所述方法的算法、指令或代码。

40.一种存储计算机可读算法、指令或代码的非暂时性计算机可读存储介质，当所述算法、指令或代码由包括至少一个处理器的计算装置执行时，使得或指示所述至少一个处理器执行如权利要求1至39中任一项所述的方法。

妊娠糖尿型病症的代谢谱筛查

[0001] 本申请要求2019年10月11日提交的美国临时专利申请第62/714,294号的权益,所述申请的全部内容以引用的方式并入本申请。

[0002] 发明背景

[0003] 怀孕导致约6-14%的女性诱发高血糖。这种妊娠糖尿病(GDM)会提高母亲患高血压和剖宫产、胎儿巨大儿和产伤、新生儿代谢异常以及在以后的生活中患糖尿病、肥胖和高血压的风险。饮食和生活方式的改变以及降血糖药可以显著减少不良后果。

[0004] 怀孕会增加母体胰岛素抵抗,促进底物转移到成长中的胎儿。这种代谢紊乱在妊娠14周(0.37足月)内出现,并在截至34周(0.8足月)增加约两倍。结果,胰岛素敏感性下降高达50%,且胰腺β细胞的胰岛素分泌增加高达250%(Kautzky-Willer 1997;Catalano,Tyzbir 1991;Catalano,Huston 1991Catalano,Huston 1999;1972)。对葡萄糖的最大β细胞分泌反应发生在第三孕期(Catalano,Tyzbir 1993)。大约5-14%的孕妇在妊娠第五个月或第六个月时胰岛素敏感性和/或胰腺β-β细胞储备不足以维持血糖正常(Powe 2016;Ozougwu 2013;Lambie 1926)。这种GDM大约使产妇发生先兆子痫和剖宫产的风险加倍(Yovev 2004;Ehrenberg 2004),并为2型糖尿型病症和心血管病症的未来发展带来重大风险(Kim 2002;Gunderson 2014;Shostrom 2017)。特别值得关注的是母体高血糖对后代的不利影响。这些不利影响包括提高胎儿巨大儿、肩难产、产伤、新生儿低血糖症和在以后的生活中易患肥胖、2型DM、代谢综合征和心血管病症的表观遗传改变的风险(Boney 2005;Dabelea 2000;Damm 2016;El Hajj 2013,Clausen 2009;Monteiro 2016,Zhao 2016)。

[0005] 通过饮食、运动和降血糖药降低母体血糖可以降低GDM的母体和围产期发病率(Landon 2009;Poolsup 2014)。因此,这些孕妇的代谢控制仍然是产前保健的重要组成部分。在美国,GDM筛查已从针对具有风险因素的孕妇(Wilkerson 1957;Carr 1998)发展为使用1小时50克口服葡萄糖激发测试(GCT)进行普遍监测(Hoet 1954;Moyer 2014;O'Sullivan等1973;Wilkerson 1957;Carr 1998;ACOG)。诊断通常在第三孕期(0.75足月)开始时通过口服葡萄糖耐量测试(GTT)确定。50多年来,GCT和GTT一直是产前保健的核心组成部分,尽管具体方案和诊断标准仍存在争议(Carpenter和Coustan 1982;World Health Organization 1998;ADA 2017;IADPSG 2010;Carr 1998)。这种策略对患者来说有很大的缺点,包括静脉穿刺的不适、不便、时间的付出和妊娠晚期诊断。在第一孕期准确识别会患上GDM的孕妇将使治疗干预能够在整个第二孕期和第三孕期使母体代谢环境正常化。早期控制母体血糖有可能优化母体和围产期结局并降低后代患2型DM和其它病症的风险(McCabe和Perng,2017;Brink 2016)。

[0006] 在受孕前,患有GDM的女性表现出胰岛素抵抗的特征(Catalano等1991),并且在第一孕期推定的胰岛素介质的尿排泄量较高(Murphy等2016)。在妊娠14周之前,各种血浆标志物与GDM相关,尽管在预测病症发作方面的价值有限(Correa 2019;Powe 2017;Sacks 2003;Nevalainen 2016;Alunni 2015;Brink 2016;Georgiou 2008;Bao 2015;Ozgu-Erdinc 2015;Rodrigo 2018;Donovan 2018)。这些研究支持继续寻找可在妊娠早期检测到的可靠预测GDM的指标

[0007] 仍然需要在第一孕期准确预测GDM的母体代谢谱,以实现早期治疗干预以改善母亲、胎儿和后代的短期和长期健康。

[0008] 发明概述

[0009] 本文描述了用于筛查、检测和治疗糖尿型病症,包括糖尿病和妊娠糖尿病(GDM)的方法、材料、试剂盒、装置和分析。在一些实施方案中,描述了一种筛查受试者对糖尿型病症的易感性的方法。在一些实施方案中,所述方法包括测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较;以及当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时,将受试者识别为易患糖尿型病症。在一些实施方案中,提供了一种检测受试者的糖尿型病症的方法。在一些实施方案中,所述方法包括测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较;以及当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时,将受试者识别为患有糖尿型病症。还提供了一种治疗受试者的糖尿型病症的方法。在一些实施方案中,所述方法包括测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较;以及当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时,治疗受试者的糖尿型病症。

[0010] 在上述方法的一些实施方案中,代谢标志物是二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种:精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸。在一些实施方案中,标志物是二氢乳清酸盐的减少和精氨酸盐、7,8-二氢新蝶呤和酵母氨酸的增加的组合。在一些实施方案中,标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸和烟酸核糖核苷的增加的组合。在一些实施方案中,标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、烟酸核糖核苷和羊毛硫氨酸的增加的组合。在一些实施方案中,多种代谢标志物包括以下中的每一种:二氢乳清酸盐、精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸。在一些实施方案中,根据图2中描绘的分类树来识别受试者是否患有糖尿型病症。在一些实施方案中,参考水平是相对于图2的分类树中所示的值来确定的。

[0011] 在一些实施方案中,多种代谢标志物包括以下中的每一种:二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、烟酸核糖核苷和酵母氨酸。在一些实施方案中,多种代谢标志物包括二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸和酵母氨酸的增加;和烟酸核糖核苷的减少。在一些实施方案中,根据图4中描绘的分类树来识别受试者是否患有糖尿型病症。在一些实施方案中,参考水平是相对于图4的分类树中所示的值来确定的。

[0012] 在一些实施方案中,代谢标志物进一步包括一种或多种选自由以下组成的组的额外标志物:多巴胺、辛酰肉碱(c8)、3-甲基戊二酸/2-甲基戊二酸和/或异柠檬酸内酯;并且其中额外标志物的增加指示糖尿型病症。

[0013] 在上述方法的一些实施方案中,多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。在一些实施方案中,标志物是1,5-脱水葡萄糖醇和/或高肌肽的减少和3-羟基丁酸酯和/或3-羟基十二烷二酸酯的增加的组合。在一些实施方案中,多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯中的每一种。在一些实施方案中,根据图3中描绘的分类树来识别受试者是否患有糖尿型病症。在一些实施方案中,参考水平是相对于图3的分类树中所示的值来确定的。

[0014] 在一些实施方案中，治疗包括饮食改变，包括补充剂、施用口服降血糖药或胰岛素疗法。在一些实施方案中，治疗包括饮食、锻炼和血糖监测(例如，频繁测试血糖水平，直至每日监测)。

[0015] 在一些实施方案中，测量包括色谱法或光谱法。在一些实施方案中，色谱法是气相色谱法或液相色谱法。在一些实施例中，光谱法是质谱法。在一些实施方案中，受试者怀孕6-40周。在一些实施方案中，受试者怀孕6-24周。在一些实施方案中，受试者怀孕6-20周。在一些实施方案中，受试者怀孕20-40周。在一些实施方案中，受试者是产后的。在一些实施方案中，受试者未怀孕。在一些实施方案中，糖尿型病症是糖尿病。在一些实施方案中，测试样品是尿液。在一些实施方案中，代谢标志物是渗透压标准化的。在一些实施方案中，分类树将提供最终算法，用于确定标志物何时增加或减少，以区分糖尿型病症与正常。

[0016] 本文还描述了一种包含至少一个程序的非暂时性计算机可读介质，当所述程序由包括至少一个处理器的计算装置执行时，使得所述计算装置执行本文所述的方法。在一些实施方案中，至少一个程序含有用于使至少一个处理器执行所述方法的算法、指令或代码。

[0017] 还描述了一种存储计算机可读算法、指令或代码的非暂时性计算机可读存储介质，当所述算法、指令或代码由包括至少一个处理器的计算装置执行时，使得或指示至少一个处理器执行本文所述的方法，或方法中的步骤。

[0018] 另外描述了一种计算机实现系统。在一个实施例中，所述系统包括：样品接收器，用于接收个体提供的样品；数字处理装置，包括被配置成执行可执行指令的操作系统和存储器；以及计算机程序，包括可由数字处理装置执行的指令，以基于样品向医疗保健提供者提供治疗。在一些实施方案中，计算机程序包括：(i)代谢物分析模块，其被配置成确定样品中至少一种代谢物的代谢物水平，所述代谢物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种：精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸，以及表2中列出的任何代谢物；(ii)检测和/或治疗确定模块，其被配置成基于代谢标志物水平确定状态和/或治疗；以及(iii)显示模块，其被配置成向医疗保健提供者提供状态和/或治疗。

[0019] 附图简述

[0020] 图1共同代谢物选择。此流程图描绘了通过随机森林预测准确性、随机森林GINI恶化或梯度提升模型来区分GDM与CON的候选代谢物的选择过程。最终模型的候选代谢物包括九个源自所有三个标准的共识的候选代谢物，加上另外两个在随机森林中排名非常高的候选代谢物。

[0021] 图2最终分类树模型。这显示了GDM与CON最佳分离的七种代谢物的分类树分析。绿色表示大多数和预测为对照的节点。金色表示大多数和预测为GDM的节点。对于树节点处的给定条件，例如“精氨酸盐<0.79”，如果条件为真(“是”)，则向左遍历树，如果条件为假(“否”)，则向右遍历树。每个节点上显示的数字代表按相应中位数缩放，并参考原比例的渗透压的代谢物水平。说明了分类树，所述分类树可以指导方法的一个实施方案的实施，所述方法使用来自受试者的渗透压标准化尿液代谢物测量来确定糖尿型病症状态。

[0022] 图3说明了使用渗透压标准化尿液代谢物测量的第2和第3孕期受试者的分类树。是＝左分支，否＝右分支。

[0023] 图4说明了使用在第1孕期研究中发现的代谢物的第2孕期受试者的分类树，n＝46

对，渗透压标准化尿液代谢物测量。代谢物：X854、酵母氨酸；x782，苯酚葡糖苷酸；X756，烟酸核糖核苷；X400，二氢乳清酸盐。

[0024] 发明详述

[0025] 本文公开了一种用于检测准确预测妊娠糖尿型病症发展的母体尿液代谢谱的方法。这种方法消除了葡萄糖耐量测试的患者负担，并识别那些早在第一孕期就会患上妊娠糖尿型病症的人。因此，治疗干预的实施可以在怀孕早期开始，从而改善母体、胎儿和新生儿结局，并降低青春期和成年期肥胖和糖尿病的风险。

[0026] 定义

[0027] 除非另有说明，否则本申请中使用的所有科学和技术术语均具有本领域中常用的含义。如在本申请中所用，以下单词或短语具有指定的含义。

[0028] 如本文所用，“对照”或“参考”样品意指代表相应标志物的正常测量值，例如从正常、健康的对照受试者中获得的测量值，或用于比较的标志物的基线量的样品。典型地，基线将为对同一受试者或患者进行的测量。样品可以是用于测试的实际样品，或者是基于对应标志物的已知正常测量值的参考水平或范围。本文所述的标志物可互换地称为“代谢物”和“代谢标志物”。

[0029] 如本文所用，“显著差异”意指可以本领域技术人员认为可靠的方式检测到的差异，例如统计学上显著的差异，或具有足够幅度，使得在所述情况下可以合理的可靠性水平检测到的差异。在一个实例中，相对于参考样品增加或减少10％是显著差异。在其它实例中，相对于参考样品增加或减少20％、30％、40％或50％被认为是显著差异。在另一个实例中，相对于参考样品增加两倍被认为是显著的。

[0030] 如本文所用，术语“受试者”包括任何人类或非人类动物。术语“非人类动物”包括所有脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，例如非人类灵长类动物、马、羊、狗、牛、猪、鸡和其它兽医受试者。在一个典型的实施方案中，受试者是人。

[0031] 除非另有明确说明，否则如本文所用，“一个(a/an)”意指至少一个。

[0032] 如本文所用，“预测准确度”意指模型(随机森林、提升或其它模型)正确预测的观测值或对象的比例。例如，预测为GDM的GDM观测值的比例和预测为对照的对照观测值的比例。

[0033] 如本文所用，“GINI标准”或“GINI指数”是指准确性/拟合的替代度量。对于二元结果，例如GDM或对照，GINI标准衡量模型对观测值进行分类的均匀程度。GINI＝1-Pg2-Pc2，其中Pg是分类为GDM的GDM观测值的比例，且Pc是分类为对照的对照的比例。当所有GDM观测值被分类为GDM(GDM为Pg＝1，对照为Pg＝0)和/或所有对照观测值被分类为对照(GDM为Pg＝0，对照为Pc＝1)时，最佳值为GINI＝0。当GDM被分类为GDM或对照或对照被分类为GDM或对照的可能性相同时，最差GINI值为GINI＝0.50。如果从模型中省略一个变量(代谢物)作为预测因子会导致GINI指数恶化(例如)0.40个单位，那么代谢物是重要的。如果省略一个代谢物只会导致GINI指数恶化(例如)0.0003个单位，那么它不是GINI的重要代谢物。

[0034] 如本文所用，“随机森林模型”是指由许多分类树构成的多变量模型。选择数据的随机子集和变量(代谢物)的随机子集，并创建分类树以预测(GDM或对照)结果。未选择用于生成树的数据被称为此树样本的“袋外”(OOB)部分。这个过程重复多次(典型地是500次或更多次)以创建多个树。GBM或对照的最终预测是通过对所有树的“投票”获得的。准确性在

OOB样本中进行评估。

[0035] 如本文所用，“提升(逻辑)回归”意指，对于二元结果和提升的最简单形式(即LogitBoost)，所有观测值最初都被赋予相同的权重1/n。一个两分支树(树“树桩”)，也称为“弱学习器”，是通过对最能区分GDM与对照的变量(代谢物)(具有最高准确度的变量)的值进行拆分而生成的。然后对观测值重新加权，其中被弱学习器错误分类的观测值被赋予比被第一弱学习器正确分类的观测值更高的权重。一旦对观测值重新加权，就会生成第二弱学习器，它可以使用不同的变量或相同的变量，并为具有较高权重的观测值给出更好的预测。重复这个过程，每个新的弱学习器都被添加到之前的弱学习器中。与逻辑回归和树类似，最终预测因此是所有弱学习器的加权线性函数的函数。提升方法给出了每种代谢物的相对影响值。给定变量(代谢物)的影响取决于选择此特定变量的次数。

[0036] 如本文所用，“共识变量”意指被超过一个模型选择为重要的变量(代谢物)。实施例在下文的实施例1中进行了说明。

[0037] 方法

[0038] 本发明提供了用于筛查、检测和治疗糖尿型病症，包括糖尿病和妊娠糖尿病(GDM)的方法。在一些实施方案中，描述了一种筛查受试者对糖尿型病症的易感性的方法。在一些实施方案中，所述方法包括测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量；将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较；以及当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时，将受试者识别为易患糖尿型病症。在一些实施方案中，提供了一种检测受试者的糖尿型病症的方法。在一些实施方案中，所述方法包括测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量；将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较；以及当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时，将受试者识别为患有糖尿型病症。还提供了一种治疗受试者的糖尿型病症的方法。在一些实施方案中，所述方法包括测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量；将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较；以及当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时，治疗受试者的糖尿型病症。

[0039] 在上述方法的一些实施方案中，代谢标志物是二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种：精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸。在一些实施方案中，标志物是二氢乳清酸盐的减少和精氨酸盐、7,8-二氢新蝶呤和酵母氨酸的增加的组合。在一些实施方案中，标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸和烟酸核糖核苷的增加的组合。在一些实施方案中，标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、烟酸核糖核苷和羊毛硫氨酸的增加的组合。在一些实施方案中，多种代谢标志物包括以下中的每一种：二氢乳清酸盐、精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸。在一些实施方案中，根据图2中描绘的分类树来识别受试者是否患有糖尿型病症。在一些实施方案中，参考水平是图2的分类树中所示的那些。在一些实施方案中，代谢标志物进一步包括一种或多种选自由以下组成的组的额外标志物：多巴胺、辛酰肉碱(c8)、3-甲基戊二酸/2-甲基戊二酸和/或异柠檬酸内酯；并且其中额外标志物的增加指示糖尿型病症。

[0040] 在一个代表性实例中，使用图2中描绘的分类树对测试样品中存在的代谢标志物

的量与标志物的参考水平的比较如下进行。对样品，例如从受试者获得的尿样进行二氢乳清酸盐分析。如果测得的二氢乳清酸盐水平低于0.24的参考值(标准化渗透压)，则分析样品中的精氨酸盐。如果精氨酸盐的测量水平高于0.79的参考水平，则分析样品中的7,8-二氢新蝶呤。如果测得的7,8-二氢新蝶呤水平高于0.45的参考水平，则分析样品中的酵母氨酸。如果测得的酵母氨酸水平大于1.2的参考水平，则将受试者识别为需要治疗糖尿病的受试者。下文描述了此分析进程的另外的实例。

[0041] 在一些实施方案中，多种代谢标志物包括以下中的每一种：二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、烟酸核糖核苷和酵母氨酸。在一些实施方案中，多种代谢标志物包括二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸和酵母氨酸的增加；和烟酸核糖核苷的减少。在一些实施方案中，根据图4中描绘的分类树来确定将受试者识别为患有糖尿型病症(参见下面的实施例4)。在一些实施方案中，参考水平是图4的分类树中所示的那些。

[0042] 在上述方法的一些实施方案中，多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。在一些实施方案中，标志物是1,5-脱水葡萄糖醇和/或高肌肽的减少和3-羟基丁酸酯和/或3-羟基十二烷二酸酯的增加的组合。在一些实施方案中，多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯中的每一种。在一些实施方案中，根据图3中描绘的分类树来识别受试者是否患有糖尿型病症。在一些实施方案中，参考水平是图3的分类树中所示的那些。

[0043] 在一些实施方案中，治疗包括血糖监测(频繁，直至每天测量母体葡萄糖水平)、饮食改变、抗氧化剂补充剂、锻炼和/或施用口服降血糖药或胰岛素疗法。膳食抗氧化剂可以增强母体/胎儿的线粒体功能，从而改善代谢环境并可能减少对降血糖药的需求。第一孕期的这种干预可以降低胎儿和母体的发病率，并降低成年后代患重大医学病症的风险。

[0044] 在一些实施方案中，测量包括色谱法或光谱法。在一些实施方案中，色谱法是气相色谱法或液相色谱法。在一些实施例中，光谱法是质谱法。在一些实施方案中，受试者怀孕6-40周。在一些实施方案中，受试者怀孕6-24周。在一些实施方案中，受试者怀孕6-20周。在一些实施方案中，受试者怀孕20-40周。在一些实施方案中，受试者是产后的。在一些实施方案中，糖尿型病症是糖尿病。在一些实施方案中，测试样品是尿液。在一些实施方案中，代谢标志物是渗透压标准化的。在一些实施方案中，通过多变量方法识别的代谢物分类树将提供用于确定标志物何时增加或减少的算法。

[0045] 在一些实施方案中，关于图2中识别的七种代谢标志物(表2的前七种代谢物)的水平对从受试者获得的尿液样品进行分析。典型地，受试者怀孕6至20周。在一些实施方案中，受试者怀孕超过20周。将测量的量标准化为尿液渗透压。在一些实施方案中，分析从图2描绘的分类树中所示的第一水平，二氢乳清酸盐开始。如果二氢乳清酸盐的水平低于二氢乳清酸盐的参考水平(例如，0.24渗透压标准化单位)，则分析沿着分类树的左侧移至精氨酸盐。如果精氨酸盐低于此标志物的参考水平，则受试者未患妊娠糖尿病。如果精氨酸盐高于参考水平，则分析移至7,8-二氢新蝶呤。如果7,8-二氢新蝶呤低于其参考水平(例如0.45)，则受试者未患GDM。如果7,8-二氢新蝶呤高于其参考水平，则分析移至酵母氨酸。低于其参考水平(1.2)的酵母氨酸与处于或高于0.98的精氨酸盐组合表明受试者未患GDM。高于其参考水平的酵母氨酸(与高于其参考水平的二氢乳清酸盐、精氨酸盐和7,8-二氢新蝶呤组合)表明GDM。

[0046] 如果二氢乳清酸盐高于参考水平(0.24),则分析移至苯酚葡糖苷酸。如果苯酚葡糖苷酸低于其参考水平(例如0.22),则受试者未患GDM。如果苯酚葡糖苷酸高于其参考水平,则分析移至烟酸核糖核苷。如果烟酸核糖核苷低于其参考水平(0.75),且羊毛硫氨酸处于或高于其参考水平(0.71),则受试者未患GDM。如果烟酸核糖核苷低于其参考水平且羊毛硫氨酸低于其参考水平,则受试者患有GDM。如果烟酸核糖核苷高于其参考水平,但二氢乳清酸盐低于1.5,则受试者未患GDM。如果烟酸核糖核苷高于其参考水平且二氢乳清酸盐高于1.5,则受试者患有GDM。

[0047] 对于用于本文所述的方法,样品的代表性实例包括但不限于血液、血浆或血清、唾液、尿液、脑脊髓液、乳汁、宫颈分泌物、精液、组织、细胞培养物和其它体液或组织标本。在一些实施方案中,样品是尿液。

[0048] 测量代谢物的方法包括但不限于核磁共振(NMR)光谱法、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法、薄层色谱法、电化学分析、质谱法、折射率光谱法、紫外光谱法、荧光分析、放射化学分析、近红外光谱法、气相色谱法和光散射分析。在一些实施方案中,测量包括气相色谱法或液相色谱法。在一些实施方案中,测量包括质谱法。

[0049] 试剂盒和分析标准品

[0050] 本发明提供试剂盒,其包括一组适用于本文所述的方法的试剂,以及任选地一个或多个含有本发明试剂的合适容器。试剂包括特异性结合和/或扩增和/或检测本发明的一种或多种标志物的分子。此类分子可以微阵列或其它制品的形式提供以用于本文所述的分析。

[0051] 本发明的试剂盒任选地包括单独或与其它试剂在一起的分析标准品或一组分析标准品。通过为代表健康个体的给定标准品提供正常表达的参考水平,分析标准品可以用作正常对照。

[0052] 装置

[0053] 本发明提供一种适用于本文所述的方法的装置。一种装置能够检测和测量本发明的一种或多种代谢标志物。所述装置任选地包括处理器,所述处理器被编程以根据本文所述的方法对代谢标志物的测量执行分析。在一些实施例中,分析包括图2中描绘的分类树的实现。在一些实施例中,分析包括图3中描绘的分类树的实现。在一些实施例中,分析包括图4中描绘的分类树的实现。

[0054] 计算机实现

[0055] 在某些方面,本文提供了用于本文的方法,例如筛查方法、检测方法、治疗方法、代谢谱分析方法和推荐治疗方法的计算机实现系统。在一些实施例中,本文中的计算机实现系统包括:(a)样品接收器,用于接收个体提供的样品;(b)数字处理装置,包括被配置成执行可执行指令的操作系统和存储器;以及(c)计算机程序,包括可由数字处理装置执行的指令,以基于样品向医疗保健提供者提供治疗。在一些实施方案中,计算机程序包括:(i)代谢物分析模块,其被配置成确定样品中至少一种代谢物的代谢物水平,所述代谢物包括精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸;和羊毛硫氨酸,以及表2中列出的代谢物的任何组合;(ii)治疗确定模块,其被配置成基于相对于参考水平的代谢物表达水平来确定治疗;以及(iii)显示模块,其被配置成向医疗保健提供者提供结果和/或治疗。

[0056] 本发明提供了一种用计算机可执行指令编码的非暂时性计算机可读介质，用于执行本文所述的方法。在另一个实施方案中，本发明提供了一种包含至少一个程序的非暂时性计算机可读介质，当所述程序由包括至少一个处理器的计算装置执行时，使得所述计算装置执行本文所述的一种或多种方法。在一些实施方案中，至少一个程序含有用于使至少一个处理器执行所述方法的算法、指令或代码。同样，本发明提供一种存储计算机可读算法、指令或代码的非暂时性计算机可读存储介质，当所述算法、指令或代码由包括至少一个处理器的计算装置执行时，使得或指示至少一个处理器执行本文所述的方法。

[0057] 本领域普通技术人员将理解，本文所述的方法的各种实施方案，包括例如代谢谱分析、分类树和GDM状态的确定可以在电子硬件、计算机软件或两者的组合(例如固件)中实施。本方法以硬件和/或软件实施可能取决于例如施加于整个系统的特定应用和设计约束。普通技术人员可以根据例如特定应用和设计约束以不同的方式实施本方法，但是此类实施决策不脱离本公开的范围。

[0058] 用于执行本方法的计算机程序/算法可以用以下各者来实现：例如设计用于执行本文所述的功能和步骤的通用处理器、数字信号处理器(DSP)、专用集成电路(ASIC)、现场可编程门阵列(FPGA)或其它可编程逻辑装置、分立门或晶体管逻辑、分立硬件组件或其任何组合。通用处理器可以是微处理器，但可选地，处理器可以是任何常规处理器、控制器、微控制器或状态机。处理器还可以实现为计算装置的组合，例如，DSP和微处理器的组合、多个微处理器、一个或多个微处理器连同DSP核心或任何其它此类配置。

[0059] 本方法的步骤或用于执行所述方法的计算机程序/算法可以直接体现在硬件中、体现在由处理器执行的软件模块中或体现在硬件和软件的组合(例如固件)中。软件模块可以驻留在例如RAM存储器、闪存、ROM存储器、EPROM存储器、EEPROM存储器、寄存器、硬盘驱动器、固态驱动器、可移动磁盘或光盘、CD-ROM或本领域已知的任何其它形式的存储介质中。示例性存储介质耦合到处理器，使得处理器可以从存储介质读取信息以及将信息写入存储介质。或者，存储介质可以集成到处理器中。处理器和存储介质可以驻留在例如ASIC中，ASIC又可以驻留在例如用户终端中。在替代方案中，处理器和存储介质可以作为分立组件驻留在例如用户终端中。

[0060] 在一个或多个示例性设计中，用于执行本文所述的方法的功能可以在硬件、软件、固件或其任何组合中实现。如果在软件中实现，那么所述功能可以作为指令或代码存储在计算机可读介质上或通过计算机可读介质传输。计算机可读介质包括但不限于计算机存储介质和通信介质，包括便于计算机程序/算法从一处转移到另一处的任何介质。存储介质可以是可由通用或专用计算机或处理器访问的任何可用介质。作为非限制性实例，计算机可读介质可包括RAM、ROM、EEPROM、CD-ROM或其它光盘存储装置、磁盘存储装置或其它磁存储装置，或任何其它可用于以指令/代码和/或数据结构的形式携带或存储计算机程序/算法并且可由通用或专用计算机或处理器访问的介质。此外，任何连接都被视为计算机可读介质。例如，如果使用同轴电缆、光纤电缆、双绞线、数字用户线(DSL)或例如红外线、无线电波或微波的无线技术从网站、服务器或其它远程来源传输软件，那么同轴电缆、光纤电缆、双绞线、DSL或例如红外线、无线电波或微波的无线技术为计算机可读介质。光盘和磁盘包括但不限于压缩盘(CD)、激光盘、光盘、数字通用盘(DVD)、蓝光盘、硬盘和软盘，其中光盘通常使用激光以光学方式再现数据，而磁盘通常以磁性方式再现数据。上述的组合也被包括在

计算机可读介质的范围内。

[0061] 本文所述的方法可以是自动化的。因此，在一些实施例中，所述方法是使用包括至少一个处理器的计算机系统(例如，服务器、台式计算机、膝上型计算机、平板电脑或智能手机)来实现的。计算机系统可以配置或提供有算法、指令或代码，用于执行可由至少一个处理器执行的方法。计算机系统可以生成含有与所述方法相关的任何或所有方面的信息，包括来自受试者的生物样品的分析结果的报告。本公开进一步提供一种用计算机可执行指令编码的用于执行本方法的非暂时性计算机可读介质。

[0062] 示例性实施方案

[0063] 示例性实施方案1是一种筛查受试者的糖尿型病症易感性的方法，所述方法包括：(a)测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量；(b)将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较；(c)当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时，将受试者识别为易患糖尿型病症；其中所述多种代谢标志物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种：精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸。

[0064] 实施方案2是一种检测受试者的糖尿型病症的方法，所述方法包括：(a)测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量；(b)将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较；(c)当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时，将受试者识别为患有糖尿型病症；其中代谢标志物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种：精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸。

[0065] 实施方案3是一种治疗受试者的糖尿型病症的方法，所述方法包括：(a)测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量；(b)将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较；(c)当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时，治疗受试者的糖尿型病症；其中代谢标志物包括二氢乳清酸盐和以下中的一种或多种：精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸。

[0066] 实施方案4：如前述实施方案中任一项所述的方法，其中所述标志物是二氢乳清酸盐的减少和精氨酸盐、7,8-二氢新蝶呤和酵母氨酸的增加的组合。

[0067] 实施方案5：如前述实施方案中任一项所述的方法，其中所述标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸和烟酸核糖核苷的增加的组合。

[0068] 实施方案6：如前述实施方案中任一项所述的方法，其中所述标志物是二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、烟酸核糖核苷的增加和羊毛硫氨酸的减少的组合。

[0069] 实施方案7：如实施方案4所述的方法，其中所述多种代谢标志物包括以下中的每一种：二氢乳清酸盐、精氨酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、酵母氨酸；和羊毛硫氨酸。

[0070] 实施方案8：如前述实施方案中任一项所述的方法，其中将受试者识别为患有糖尿型病症是根据图2中描绘的分类树确定的。

[0071] 实施方案9：如实施方案8所述的方法，其中参考水平是图2的分类树中所示的那些。

[0072] 实施方案10:如实施方案4至9中任一项所述的方法,其中代谢标志物进一步包括一种或多种选自由以下组成的组的额外标志物:多巴胺、辛酰肉碱(c8)、3-甲基戊二酸/2-甲基戊二酸和/或异柠檬酸内酯;并且其中额外标志物的增加指示糖尿型病症。

[0073] 实施方案11:如实施方案3所述的方法,其中所述治疗包括饮食改变、施用口服降血糖药或胰岛素疗法。

[0074] 实施方案12:如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述测量包括色谱法或光谱法。

[0075] 实施方案13:如实施方案12所述的方法,其中所述色谱法是气相色谱法或液相色谱法。

[0076] 实施方案14:如实施方案12所述的方法,其中所述光谱法是质谱法。

[0077] 实施方案15:如实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者怀孕6-40周。

[0078] 实施方案16:如实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者是产后的。

[0079] 实施方案17:如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述糖尿型病症是糖尿病。

[0080] 实施方案18:如前述实施方案中任一项所述的方法,其中测试样品是尿液。

[0081] 实施方案19:如实施方案18所述的方法,其中所述代谢标志物是渗透压标准化的。

[0082] 实施方案20:如前述实施方案中任一项所述的方法,其中多变量统计分析和/或数学方法用于确定标志物何时增加或减少。

[0083] 实施方案21是一种筛查受试者的糖尿型病症易感性的方法,所述方法包括:(a)测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;(b)将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较;(c)当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时,将受试者识别为易患糖尿型病症;其中所述多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。

[0084] 实施方案22是一种检测受试者的糖尿型病症的方法,所述方法包括:(a)测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;(b)将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较;(c)当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时,将受试者识别为患有糖尿型病症;其中所述代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。

[0085] 实施方案23是一种治疗受试者的糖尿型病症的方法,所述方法包括:(a)测量从受试者获得的测试样品中存在的多种代谢标志物的量;(b)将测试样品中存在的代谢标志物的量与标志物的参考水平进行比较;(c)当测试样品中存在的每种测量标志物的量相对于参考水平增加或减少时,治疗受试者的糖尿型病症;其中所述多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯。

[0086] 实施方案24:如实施方案21至23中任一项所述的方法,其中所述标志物是1,5-脱水葡萄糖醇和/或高肌肽的减少和3-羟基丁酸酯和/或3-羟基十二烷二酸酯的增加的组合。

[0087] 实施方案25:如实施方案24所述的方法,其中所述多种代谢标志物包括3-羟基丁酸酯、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽和3-羟基十二烷二酸酯中的每一种。

[0088] 实施方案26:如前述实施方案中任一项所述的方法,其中将受试者识别为患有糖

尿型病症是根据图3中描绘的分类树确定的。

[0089] 实施方案27:如实施方案26所述的方法,其中参考水平是图3的分类树中所示的那些。

[0090] 实施方案28:如实施方案23所述的方法,其中所述治疗包括饮食改变、施用口服降血糖药或胰岛素疗法。

[0091] 实施方案29:如实施方案21至28中任一项所述的方法,其中所述测量包括色谱法或光谱法。

[0092] 实施方案30:如实施方案29所述的方法,其中所述色谱法是气相色谱法或液相色谱法。

[0093] 实施方案31:如实施方案29所述的方法,其中所述光谱法是质谱法。

[0094] 实施方案32:如实施方案21所述的方法,其中所述受试者怀孕6-40周。

[0095] 实施方案33:如实施方案21所述的方法,其中所述受试者是产后的。

[0096] 实施方案34:如实施方案21至33中任一项所述的方法,其中所述糖尿型病症是糖尿病。

[0097] 实施方案35:如实施方案21至34中任一项所述的方法,其中测试样品是尿液。

[0098] 实施方案36:如实施方案35所述的方法,其中所述代谢标志物是渗透压标准化的。

[0099] 实施方案37:如实施方案21至36中任一项所述的方法,其中多变量统计分析和/或数学方法用于确定标志物何时增加或减少。

[0100] 实施方案38是一种包含至少一个程序的非暂时性计算机可读介质,当所述程序由包括至少一个处理器的计算装置执行时,使得所述计算装置执行如实施方案1至37中任一项所述的方法。

[0101] 实施方案39:如实施方案38所述的介质,其中所述至少一个程序含有用于使所述至少一个处理器执行所述方法的算法、指令或代码。

[0102] 实施方案40是一种存储计算机可读算法、指令或代码的非暂时性计算机可读存储介质,当所述算法、指令或代码由包括至少一个处理器的计算装置执行时,使得或指示所述至少一个处理器执行如实施方案1至39中任一项所述的方法。

实施例

[0103] 呈现以下实施例以说明本发明并帮助普通技术人员制造和使用本发明。所述实施例无意以任何方式限制本发明的范围。

[0104] 实施例1:妊娠早期代谢物预测妊娠糖尿病

[0105] 此实施例表明,早在第一次产前检查时的母体代谢谱就可以准确识别GDM。先进的分析方法被用于生成准确预测妊娠早期的妊娠糖尿型病症(GDM)的尿液代谢物模型。包括七种妊娠早期尿液代谢物的模型可以高准确性(96.7%)预测GDM。所述模型的准确性与母亲年龄、体重指数和尿液收集时间无关。此实施例报告了利用妊娠早期代谢谱的算法可以准确识别GDM的首次概念验证。

[0106] 一个主要的妊娠适应是胰岛素抵抗,它在妊娠14周(0.37足月)出现,并在妊娠晚期上升至两倍。[1]北美约5-12%的孕妇胰岛素敏感性和/或胰腺β细胞储备不足以维持血糖正常。[2]这种妊娠糖尿型病症(GDM)增加了母亲(先兆子痫、剖宫产)和胎儿(巨大儿、产伤)的

短期发病风险。60多年来，葡萄糖激发/耐量测试一直是GDM的诊断标准，通常在妊娠晚期进行。[3]虽然使产妇血糖正常化可以减少短期发病率，[4]但这种繁重的诊断方法有相当大的缺点，包括时间投入和延迟治疗直至妊娠的最后四分之一。

[0107] 在妊娠早期治疗GDM的另一个基本原理是越来越多的证据表明，通过不利的宫内程序设计的妊娠糖尿型病症使胎儿在以后的生活中易患肥胖、2型糖尿型病症和心血管疾病。[5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15]在妊娠早期使母体代谢环境正常化可能会减少氧化应激和炎症，所述氧化应激和炎症推定会损害胰岛素敏感性和胰腺β细胞功能，从而导致母亲和孩子易患致残医学病症。[5,6,7]第一孕期生物标志物的准确性<80％，对GDM诊断缺乏足够的敏感性和特异性。[16,17,18,19,20]这项代谢组学研究的目的是确定大量多样的代谢物和先进的统计方法是否能够识别准确预测妊娠早期GDM的尿液代谢谱。这一发现将使得1)在妊娠14周之前能够对GDM进行无创诊断和2)未来的研究能够确定早期治疗干预在多大程度上降低围产期发病率和肥胖、2型糖尿型病症和心血管疾病的跨代传播。

[0108] 材料和方法

[0109] 一项嵌套的观测性病例对照研究确定了正常单胎孕妇[对照(CON)]相对于根据葡萄糖激发测试(GCT)/耐量测试(GTT)患有GDM的孕妇的尿液代谢谱。[3]对于≥200mg/dl的血糖水平，或者对于一些有风险因素的患者略低一些的GTC结果被认为是诊断性的。空腹血糖水平>95mg/dl(对于GCT不耐受者)或第一孕期HbA_1c(≥5.7％)也用于识别GDM。GDM与CON受试者按年龄、孕前体重指数(BMI)和尿液收集时的孕龄配对。全球预防早产和死产联盟(Seattle,WA)的一个存储库提供了去识别的尿液样品。根据University of Washington Medical Center、Swedish Medical Center Seattle、Yakima Valley Memorial Hospital和Seattle Children's Hospital的机构审查委员会批准的协议，所有参与的孕妇都签署了书面知情同意书。

[0110] 在妊娠6-19周时收集随机尿液标本并储存在-80℃下直至由Metabolon,Inc.(Durham,NC)进行分析。通过超高效液相色谱/质谱串联质谱(UPLC-MS/MS)结合正离子模式电喷雾电离、UPLC-MS/MS结合负离子模式电喷雾电离和气相色谱/质谱分析了尿液样品的951种不同的低分子量(<1000)生化物质。[21]所述平台通过与纯化标准品的质谱进行比较来识别代谢物。总过程可变性为10％。质量控制样本提供了过程控制。每种代谢物的峰面积缩放到中值和渗透压以调整液体摄入量。

[0111] 双变量分析。用于比较服从正态分布的连续变量的p值是用t检验计算的。使用威尔科克森秩和检验(Wilcoxon rank sum test)计算不服从任何尺度上的正态分布的非时间相关连续变量的p值。用于比较例如种族/群族等分类变量的p值是使用精确排列卡方检验或费雪精确检验(Fisher's exact test)计算的。报告了平均值±SE。差异在$p<0.05$处显著。

[0112] 代谢物的统计分析排除了异生物质和部分表征的化合物。626种内源性化合物的其余子集包括肽、氨基酸、碳水化合物、脂肪酸、核苷酸、酶辅因子和维生素。在GDM与CON之间的对数尺度上比较代谢物平均值，并用平均值和标准误差(SE)总结对数尺度数据。差异在$p<0.05$处标称显著。差异的效应大小表示为以标准偏差(SD)单位表示的平均差异(GDM-CON,对数尺度)。

[0113] 多变量分析。随机森林预测准确性、随机森林GINI恶化和梯度提升逻辑回归(梯度

提升模型)用于多变量分析。通过这三个标准中的两个或更多个标准对顶级代谢物的共识排名用于选择同时与GDM相对于CON相关的化合物。通过所有三个标准对顶级代谢物的共识排名,或通过给定方法识别的最重要代谢物,选择了考虑用于最终预测模型的较小生化子集。

[0114] 使用已识别的化合物,分类树得出最终预测算法。报告了最终模型的敏感性、特异性、准确性(敏感性和特异性的未加权平均值)和接受者操作特征(ROC)面积。使用SAS 9.4版(SAS Inc,Cary,NC)和R3.5.2版进行随机森林和梯度提升模型(R Project for Statistical Computing,www.r-project.org)的计算。

[0115] 结果

[0116] 46例GDM中约有三分之二是在第三孕期诊断出来的,其余的几乎平均分布在第一和第二孕期(表1)。GCT水平≥200mg/dl或GTT(除一个病例有一个标准外,所有病例均具有≥两个标准)用于识别60.9%的病例。180±1.4mg/dl(范围:171-187mg/dl)的GCT值用于选择32.6%。通过空腹血糖(GCT不耐受)或第一孕期HbA_1c选择的数量可以忽略不计。在46例GDM中,23例(50.0%)通过饮食、19例(41.3%)通过口服降血糖药且4例(8.7%)通过胰岛素来控制母体血糖。在通过较低OCT阈值(>170mg/dl)诊断的15个病例中,六例(40%)通过饮食控制,且九例(60%)用口服药剂治疗。通过空腹血糖识别的一例和通过HbA_1识别的两例分别需要胰岛素和口服药剂。在CON组中,GTC胎龄为27±0.7周(相对于GDM的p=0.067);且一小时血糖水平为108±2.9mg/dl(相对于GDM的p<0.0001)。

[0117] 表1.根据GDM诊断方法的胎龄和GCT血糖

[0118] GDM诊断

[0119]

	<12周	12-23周	>24周	
N (%)	8 (17.4)	7 (15.2)	31 (67.4)	
GA (周)	9.7 ± 0.5	17.0 ± 1.4	27.2 ± 0.3	
GTC血糖(mg/dl)	150 ± 6.9	180 ± 7.6	180 ± 5.7	
诊断(n)				总计(%)
GTT	4	1	17	22 (47.8)
GCT (≥200 mg/dl)	0	1	5	6 (13.0)
GCT (171-187 mg/dl)*	1	6	8	15 (32.6)
禁食(>95 ml/dl) 0	0	1	0	1 (2.2)
HbA_1c (≥5.7%)	2	0	0	2 (4.3)

[0120] *有风险因素;N,数量;GA,胎龄

[0121] GDM-CON对与母亲年龄(GDM:32.2±0.7岁;CON:31.8±0.6岁;p=0.56)、BMI(GDM:31.5±1.0kg/m^2;CON:30.0±1.0kg/m^2;p=0.18)和收集尿液时的胎龄(GDM:11.7±0.4周;CON:12.0±0.4周;p=0.46)非常匹配。不匹配的奇偶性(GDM:2.5±0.3,CON:1.9±0.3;p=0.31)和种族/群族(白人:GDM 27,CON 37;西班牙裔:GDM:9,CON 2;亚裔:GDM 5,CON 2;混合:GDM 5,CON 5;p=0.063)没有显著差异。

[0122] 随机森林准确性、随机森林GINI或梯度提升模型(相对重要性)值相对于代谢物排名的陡坡图显示在不超过30个最高排名的代谢物之后趋于平稳(“断点”)。在626种代谢物

中，有54种根据独立区分GDM与CON的三个标准中的至少一个位居前30位，且54种化合物中有26种根据至少两个标准排名靠前(图1)。九种化合物被所有三个标准识别为重要的(图1，表2)。最终的11个候选模型包括另外两种在随机森林中排名非常高的代谢物(表3)。在GDM中，11种代谢物中的六种与CON有显著差异(标称$p<0.05$)，如由效应大小所揭示。

[0123] 表2.通过用于区分GDM与CON的三个多变量标准(粗体字体)或通过随机森林的非常高排名(正常字体)识别的候选尿液代谢物。*(GDM-CON)SD，对数尺度；**标称$p<0.05$；†为最终预测模型选择的七种代谢物。

[0124]

代谢物	功能途径	效应大小*
精氨酸盐†	精氨酸分解代谢	0.733**
酵母氨酸†	赖氨酸分解代谢	0.646**
二氢乳清酸盐†	嘧啶合成	0.558
多巴胺	酪氨酸代谢	0.254
异柠檬酸内酯	三羧酸循环	0.408
辛酰肉碱	脂肪酸氧化	0.124
3-甲基戊二酸/ 2-甲基戊二酸	脂肪酸氧化	0.108
羊毛硫氨酸†	抗氧化 抗炎	-0.509
烟酸核糖核苷†	抗氧化 抗炎 生物能学	0.655**
7,8-二氢新蝶呤†	抗氧化	0.464**
苯酚葡糖苷酸†	酚代谢 (肠道菌群)	0.596**

[0125] 表3.根据分类树层级对妊娠早期GDM的预测准确性。

[0126] Di，二氢乳清酸盐；ar，精氨酸盐；pg，苯基葡糖苷酸；ne，7,8-二氢新蝶呤；nr，烟酸核糖核苷；sa，酵母氨酸；la，羊毛硫氨酸

[0127]

层级	代谢物	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)	ROC面积
1	di	78.3	65.2	71.7	0.717
2	di ar pg	78.3	78.3	78.3	0.832
3	di ar pg ne nr	89.1	73.9	81.5	0.906
4	di ar pg ne nr sa la	89.1	91.3	90.2	0.946
5	di ar pg ne nr sa la	97.8	95.7	96.7	0.993

[0128] 在最终的分类树模型(图2)中，11种代谢物中有七种同时以高准确度预测妊娠糖尿型病症。模型的标称预测准确度根据树层级数的增加而增加(表3)。准确度从使用单一代

谢物的一级树的71.7%逐渐提高到包含所有七种代谢物的最终树的96.7%。最终树的标称敏感性为97.8%(45/46),特异性为95.7%(44/46),且ROC面积为0.993。

[0129] 主要发现。所述模型的高预测准确度(96.7%)证明了这样一个概念,即对妊娠早期大量、多样化的尿液生化物质进行高级统计分析可以识别对GDM具有高度选择性的代谢物谱。此外,高准确度与母亲年龄、BMI和尿液收集时间无关—所有这些都有助于临床使用。

[0130] 结果。区分妊娠早期GDM的11种代谢物包括先前未报道过的化合物,包括二氢乳清酸盐、苯酚葡糖苷酸、7,8-二氢新蝶呤、烟酸核糖核苷、羊毛硫氨酸和多巴胺。[18,19,20,22,23,24]本研究的不同之处还在于它没有选择缬氨酸、色氨酸、嘌呤或类固醇代谢物。[17,19,20]如先前所报道,GDM扰乱了与精氨酸、赖氨酸、柠檬酸盐和脂肪酸代谢相关的生化物质。[17,18,22,23,24]

[0131] 所选11种候选化合物中的六种(54.5%)与氨基酸分解代谢(n=3)、血糖氧化(n=1)和脂肪酸氧化(n=2)有关。其它三种化合物参与抗氧化途径,可能反映了高血糖相关的氧化应激和炎症。[7,25,26,27]总之,这些发现与早在第一孕期的胰岛素抵抗和糖尿型病症的代谢紊乱一致。有趣的是,一项小型纵向GDM研究记录了受孕前胰岛素刺激葡萄糖处置量的一些减少。[28]

[0132] 之前的一项代谢组学研究报告了在妊娠约16周时收集的血清中17种代谢物的预测值。[17]此小组由脂肪酸、糖和氨基酸构成,预测GDM的ROC面积为0.8485,敏感性为78%,特异性为75%,且准确度为76.5%。在妊娠约12周时获得的血清中,PAPP-A、甘氨酸、精氨酸、异戊酰肉碱和母体风险因素的ROC面积为0.83,敏感性为72%,特异性为80%,且准确度为76%。[18]另一项代谢组学研究报告了色氨酸或嘌呤的单一尿液代谢物的ROC面积在0.641至0.858范围内。[19]

[0133] 在本研究中,分类树选择了七种代谢物的一个子集用于识别GDM。算法的高预测准确度(96.7%)显著高于先前报告的一种或多种第一孕期生化物质的准确度,即使增加了母体风险因素也如此。[16,17,18]

[0134] 临床意义。结果增强了人们对这些先进的分析方法有可能创建一个足够准确的代谢物模型以在第一孕期诊断GDM的信心。与2型糖尿型病症一样,[29]线粒体功能障碍可能在GDM的发病机制中起关键作用。[5,6,7,25]稳定线粒体功能并减少活性氧类和促炎介质的产生可能会增强胰岛素敏感性并改善母婴结局。

[0135] 研究意义。基于可变和未经验证的筛查方法,15-70%的GDM可在妊娠<24周内检测到。[30]在13个群组的研究的荟萃分析中,早发性GDM的围产期死亡率、新生儿低血糖和胰岛素需求高于晚发性GDM。[30]然而,由于缺乏早期GDM筛查/诊断的有效方法、现有干预措施和治疗目标的益处存疑以及缺乏随机研究,普遍的第一孕期筛查仍然存在争议。[30,31]因此,早期干预的益处是否超过延长血糖监测、开支和患者不便的成本并不确定。

[0136] 晚期诊断的GDM(≥24周妊娠)在妊娠早期表现出一系列独特的代谢紊乱,为早期诊断和干预提供了强有力的论据。首先,被扰乱的代谢物通过对胰岛素敏感性和代谢的直接和间接影响损害胰岛素抵抗。[32]其次,被破坏的代谢信号传导途径可以改变涉及转录因子、染色质、小RNA和DNA甲基化的表观遗传调控机制。[33]由此产生的表观遗传紊乱使代谢、心血管和神经内分泌途径失调。[14]这种机制被归因于不利的胎儿程序设计,除了遗传的遗传易感性外,还会增加后来发生重大代谢和心血管疾病的风险。关于GDM的问题自然会出现:1)什么机制会引发功能失调的胰岛素抵抗和β细胞胰岛素释放缺陷?2)哪些治疗干预可以减

缓病症的妊娠进展并减轻胎儿表观遗传失调?

[0137] 本研究表明,妊娠早期的尿液代谢表型可以准确识别随后在妊娠早期或晚期诊断出的GDM,从而实现针对短期和长期围产期发病率的随机、创新干预(包括饮食增强线粒体功能[29])。一项验证代谢组学研究将进一步支持这种有前景的模型的高诊断准确性,这可以取代GCT和GTT。验证还将允许尿液测量仅限于模型代谢物,从而降低成本。这一成就将有助于纵向研究从妊娠早期开始调节母体代谢环境是否会降低GDM患病率、围产期发病率以及肥胖、2型糖尿型病症和心血管疾病的长期风险。

[0138] 优势和局限性。所述研究的一个主要优势是通过非靶向代谢组学,一种识别生物标志物的强大工具进行分析。此外,扩展的分析平台测量了大范围的代谢物,有助于发现与GDM独立相关的代谢物。

[0139] 另一个明显的优势是使用先前未用于GDM代谢组学研究的先进多变量方法。当有许多变量(本研究中的626个代谢物)和一些观测值(本研究中的两个)时,传统的逻辑回归或判别分析在用于从候选池中查找重要变量时会遭受过度拟合和高错误率。与观测值相比,对于非常大量的代谢物,传统的回归甚至是不可行的。因此,随机森林预测准确性、随机森林GINI恶化和梯度提升模型被用于多变量分析。使用两种模型(随机森林、梯度提升模型)的共识,对线性和可加性有不同的假设,并仅选择通过两种方法识别为强预测因子的那些代谢物提供了针对假阳性的额外保护[17]和较小的代谢物子集,以供预测算法考虑。这种共识分析增强了识别真阳性的信心,尽管可能以增加假阴性为代价。

[0140] 在46个病例对照对下,研究规模不足以提供单独的训练和验证。研究规模相对较小和族群代表性不均也限制了适用于一般应用。因此,这项研究需要在更大的、种族多样化的人群中进行验证。缺乏标准化诊断标准是次优的;然而,这反映了社区实践。这种不一致并没有显著损害诊断准确性,因为根据非常规标准(较低GTC阈值,HbA_1c)识别的GDM患者中有65%(11/17)需要口服降血糖疗法。

[0141] 结论。先进的分析方法首次识别了早在第一孕期就可以准确预测妊娠早期和晚期诊断出的GDM的母体代谢物谱。通过更大规模的研究验证模型将支持1)尿液代谢表型作为GCT和GTT诊断GDM的替代方案,以及2)临床研究以确定第一孕期正常化母体代谢在多大程度上降低GDM患病率、围产期发病率和导致肥胖、2型糖尿型病症和心血管疾病激增的胎儿表观遗传破坏。

[0142] 参考文献

[0143] 1.Catalano PM,et al.Am J Obstet Gynecol 1991;165(6 pt 1):1667-1667-72.

[0144] 2.Zhu Y,Zhang C.Curr Diab Rep 2016:16(1):7.

[0145] 3.American College of Obstetricians and Gynecologists.ACOG Practice Bulletin.Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists.Number 190.Obstet Gynecol 2018;131:e49-e63.

[0146] 4.Poolsup N,et al.PLoS One 2014;9:e92485

[0147] 5.Ma RCW,et al.Prog Biophys Mol Biol 2015;118:55-68.

[0148] 6.Briana DD,et al.J Matern Fetal Neonatal Med 2018;31(7):895-900.

[0149] 7.Sallam NA,et al.Int J Mol Sci 2018;19(11),3365.

[0150] 8.Atig M,et al.Pediatr Cardiol 2017;38(5):941-45.

[0151] 9.Lowe WL,et al.Diabetologia 2019;62:598-610.

[0152] 10.Alexander BT,et al.Compr Physiol 2015;5(2):997-1025.

[0153] 11.Monteiro LJ,et al.Placenta 2016;48(Suppl 1):S54-S60.

[0154] 12.Goyal D,et al.J Endocrinol 2019;242:T105-T119.

[0155] 13.Elliott HR,et al.Diabetologia 2019;62:2171-2178.

[0156] 14.Haertle L,et al.Clin Epigenetics 2017;9:28.

[0157] 15.Cvitic S,et al.Diabetologia 2018;61:2398-2411.

[0158] 16.Powe CE.et al.Curr Diab Rep 2017;17:12.

[0159] 17.Enquobahrie DA,et al.J Clin Endocrinol Metab 2015;100:4348-56.

[0160] 18.Nevalainen J,et al.Rev Diabet Stud 2016 Winter;13(4):236-45.

[0161] 19.Law KP,et al.Clin Chim Acta 2017;468:126-39.

[0162] 20.Liu X,et al.Sci Rep 2019;9:2605.

[0163] 21.Ford L,et al.J Appl Lab Med 2020;5(2):342-56..

[0164] 22.Sachse D,et al.PLoS One 2012;7(12):e52399.

[0165] 23.Qiu C,et al.Diabetes Res Clin Pract 2014;104:393-400.

[0166] 24.White SL,et al.Diabetologia 2017;60(10):1903-12.

[0167] 25.Plows JF,et al.Int J Mol Sci 2018;19(11):3342.

[0168] 26.Rehman K,et al.J Cell Biochem 2017;118(11):3577-3578.

[0169] 27.Radaelli T,et al.Diabetes 2003;52(12):2951-2958.

[0170] 28.Catalano PM,et al.Am J Physiol 1993;264:E60-E67.

[0171] 29.Sergi D,et al.Front Physiol 2019;10:532.

[0172] 30.Immanuel J,Simmons D.Curr Diab Rep 2017;17(11):115.

[0173] 31.Placencia W,et al.Fetal Diagn Ther 2011;30(2):108-115.

[0174] 32.Yang Q,et al.Nat Rev Med Cell Biol.2018;19(10):654-672.

[0175] 33.Sharma U,Rando OJ.Cell Metab 2017;25:544-558.

[0176] 实施例2:妊娠20周以上的尿液代谢物可预测妊娠糖尿病

[0177] 进行此研究以:1)评估GD在妊娠晚期的尿液代谢物的相对水平与正常孕妇(NG)是否不同,以及2)确定随机收集的尿液中提出的独特代谢物是否可用于识别妊娠后半期的GD。

[0178] 方法:此嵌套观测性病例对照研究涉及46名GD和46名NG,他们的母亲年龄、孕前BMI和收集尿液时的孕龄相匹配。排除标准包括多种妊娠、代谢或心血管病症。全球预防早产和死产联盟提供了尿液样品和人口统计数据。三个独立医疗中心的从业者根据当地标准通过葡萄糖激发测试和葡萄糖耐量测试诊断出GD。代谢组学平台(Metabolon,Inc.)分析了尿液中626种非靶向内源性代谢物(<1,000道尔顿)的渗透压校正水平。多变量方法(随机森林准确性和GINI,提升相对重要性)筛选同时区分GD与NG的代谢物。分类树提供了预测GD与NG的最终算法。

[0179] 结果:病例组和对照组在母亲年龄(MA)、孕前体重指数(BMI)和收集尿液时的胎龄(GA)方面类似(平均值,(SD))。这些特征总结在表4中。

[0180] 表4

[0181]

	MA(岁)	BMI(kg/m^2)	GA(周)
妊娠糖尿型病症	32.2(4.7)	31.5(6.8)	30.8(3.6)
正常孕妇	31.8(4.2)	29.9(6.3)	30.5(3.0)

[0182] 三个多变量标准同时识别了八种区分GD与NG的代谢物。包含这些代谢物中的4种(3-羟基丁酸、1,5-脱水葡萄糖醇、高肌肽、3-羟基十二烷二酸)的五级分类树以89%的未加权准确度(敏感性和特异性的平均值)预测GDM。分类树如图3中所示。

[0183] 此实施例表明,妊娠后半期的随机尿液样品的代谢谱在识别GD与NG方面非常准确。所述数字是指渗透压校正浓度单位。

[0184] 实施例3:妊娠糖尿型病症扰乱了妊娠早期的能量代谢

[0185] 妊娠糖尿型病症(GD)患者在受孕前胰岛素敏感性受损。本实施例的目的是确定妊娠早期的母体尿液代谢物是否揭示了改变的代谢途径。

[0186] 方法:此嵌套、观测性病例对照群组研究由来自全球预防早产和死产联盟(Seattle,WA)的随机收集、去识别的尿液样品组成。葡萄糖激发和葡萄糖耐量测试通过机构标准来诊断GD。研究由46名GD和46名对照(NG)组成,其单胎妊娠与母亲年龄、体重指数(BMI)和尿液收集时的孕龄(GA)相匹配。排除的孕妇患有明显的代谢或心血管病症。一个无偏的代谢组学平台(Metabolon,Inc.)分析了626种内源性尿液化合物(<1,000道尔顿)的渗透压校正浓度。多变量方法(随机森林,提升相对重要性)识别了同时区分GD与NG的代谢物。

[0187] 结果:病例组和对照组具有类似的平均产妇年龄[GD:32±0.7(SE);NG:32±0.6岁]、孕期体重指数(GM:31.5±1.0;NG 30.0±1.0kg/m^2)和收集尿液时的胎龄(GD:11.7±0.4;NG:12.0±0.4周)。多变量标准识别了26种同时区分GD与对照的化合物。途径分析表明,GD改变了氮平衡(n=7)、氧化还原(n=8)和氧化磷酸化(n=5)的途径。微生物组衍生代谢物(n=7)的变化包括胆汁酸(3)、赖氨酸(2)和苯丙氨酸(2)的同源物。

[0188] GD在妊娠早期表现出代谢途径的扰动,与氧化应激增加、能量代谢紊乱和胰岛素抵抗一致。

[0189] 实施例4:在妊娠早期识别的尿液代谢物也可预测妊娠晚期尿液(妊娠>20周)中的GDM

[0190] 进行此研究以:1)评估GD在妊娠晚期的尿液代谢物的相对水平与正常孕妇(NG)是否不同,以及2)确定随机收集的尿液中提出的独特代谢物是否可用于识别妊娠后半期的GD。验证数据展示于图4中,并证明了七种代谢物(在以上实施例1中用于<20周妊娠)对于>20周妊娠(与实施例2相同的患者)的准确性。七种代谢物的分类树如下所示,其中仅发现4种可优化检测GDM的准确性。所述研究包括46对受试者,且代谢物测量值被渗透压标准化。代谢物列于表5中,其中删除线表示未使用的代谢物精氨酸盐(X304)、7,8-二氢新蝶呤(X257)和羊毛硫氨酸(X622)。

[0191] 表5

[0192]

代谢物编号	代谢物名称
X400	二氢乳清酸盐
~~X304~~	~~精氨酸盐*~~
X782	苯酚葡糖苷酸
~~X257~~	~~7,8-二氢新蝶呤~~

[0193]

X756	烟酸核糖核苷
~~X622~~	~~羊毛硫氨酸~~
X854	酵母氨酸

[0194] 表6

[0195]

组	预测对照	预测GDM	总计	正确率
对照	39	7	46	84.8%
GDM	6	40	46	87.0%

[0196] 标称等重准确性＝85.9%,C stat＝0.879

[0197] 表6中所示的分类表指示GDM敏感性为84.5%;NG特异性为87%;且标称准确性为86%。曲线下面积(AUC)为0.0.879。

[0198] 贯穿本申请,引用了各种公布。这些公布的公开内容全部以引用方式并入本申请以便更全面地描述本发明所属领域的技术现状。

[0199] 本领域的技术人员将理解,前述描述中公开的概念和具体实施方案可以容易地用作修改或设计用于实现本发明相同目的的其它实施方案的基础本领域技术人员还将理解,这样的等效实施方案不脱离如所附权利要求中阐述的本发明的精神和范围。

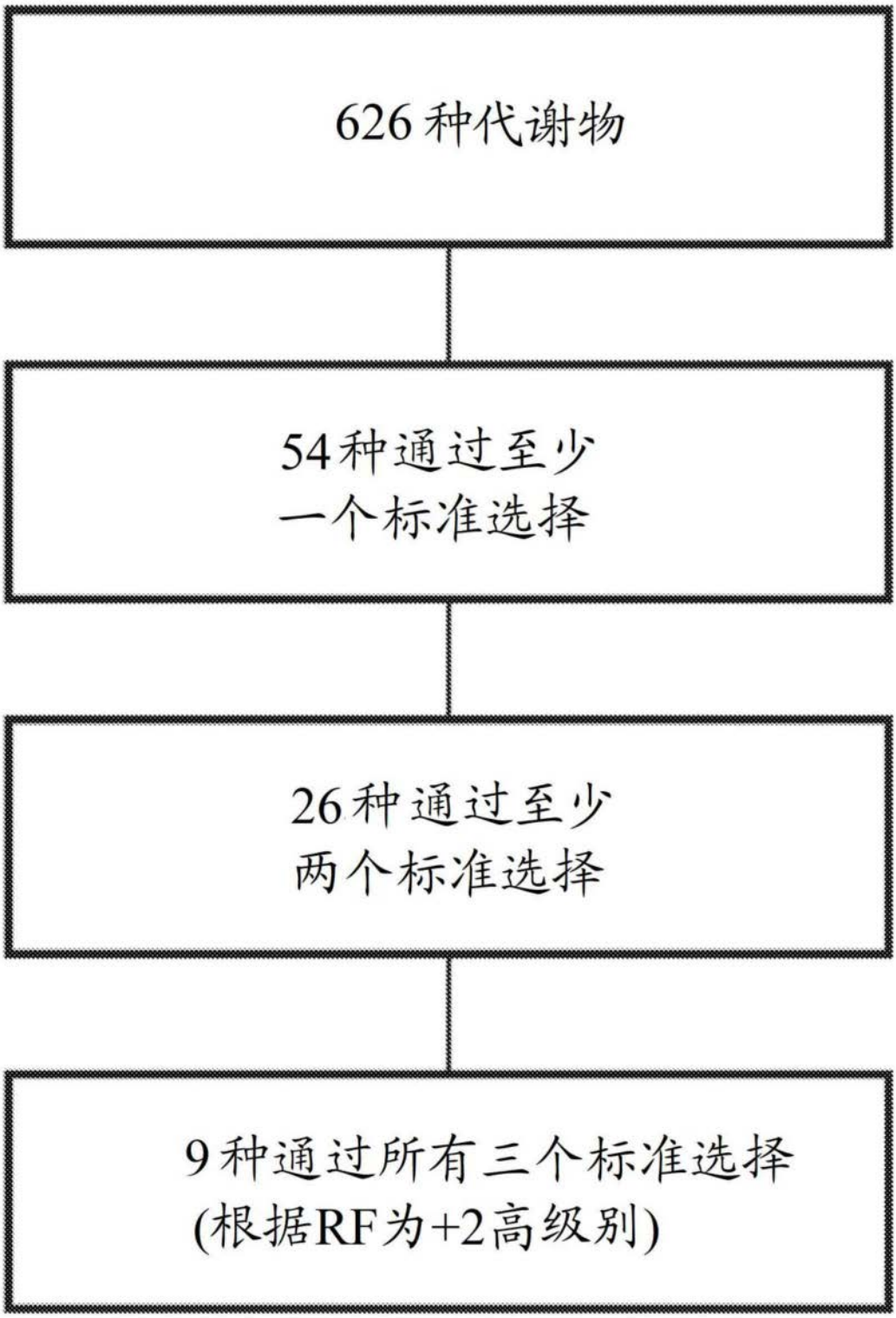

626种代谢物
54种通过至少
一个标准选择
26种通过至少
两个标准选择
9种通过所有三个标准选择
(根据RF为+2高级别)

图1

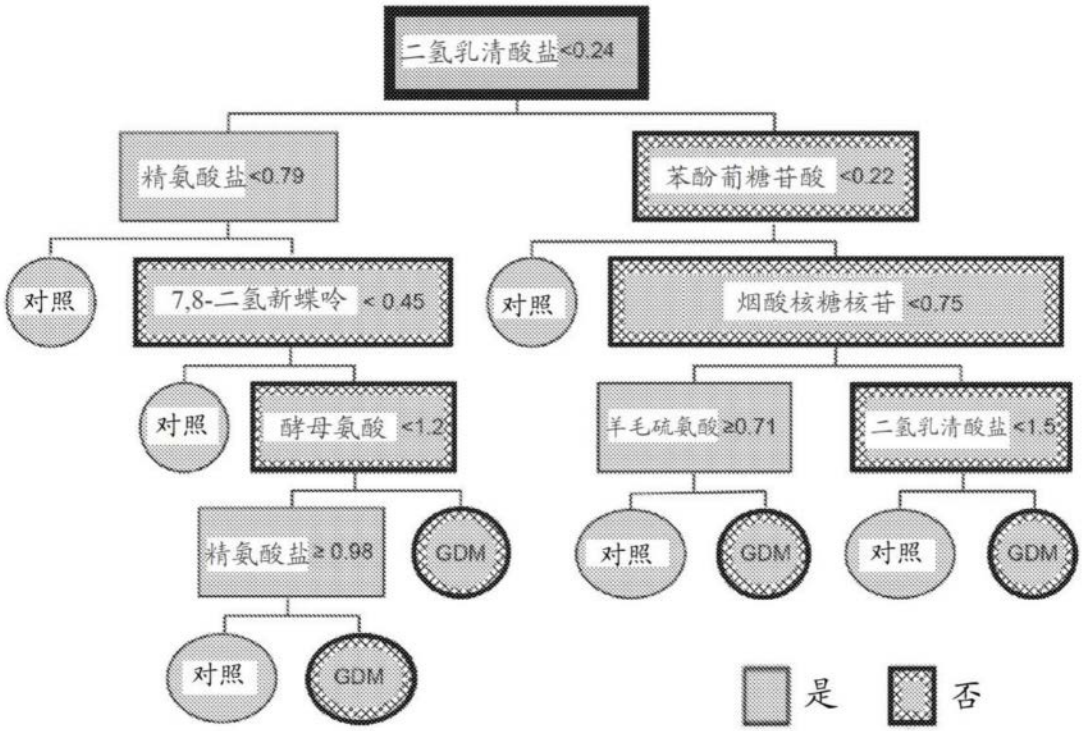

二氢乳清酸盐<0.24
精氨酸盐<0.79
苯酚葡糖苷酸 <0.22
对照
7,8-二氢新蝶呤 < 0.45
对照
烟酸核糖核苷 <0.75
对照
酵母氨酸 <1.2
羊毛硫氨酸≥0.71
二氢乳清酸盐 <1.5
精氨酸盐≥0.98
GDM
对照
GDM
对照
GDM
对照
GDM
是
否

图2

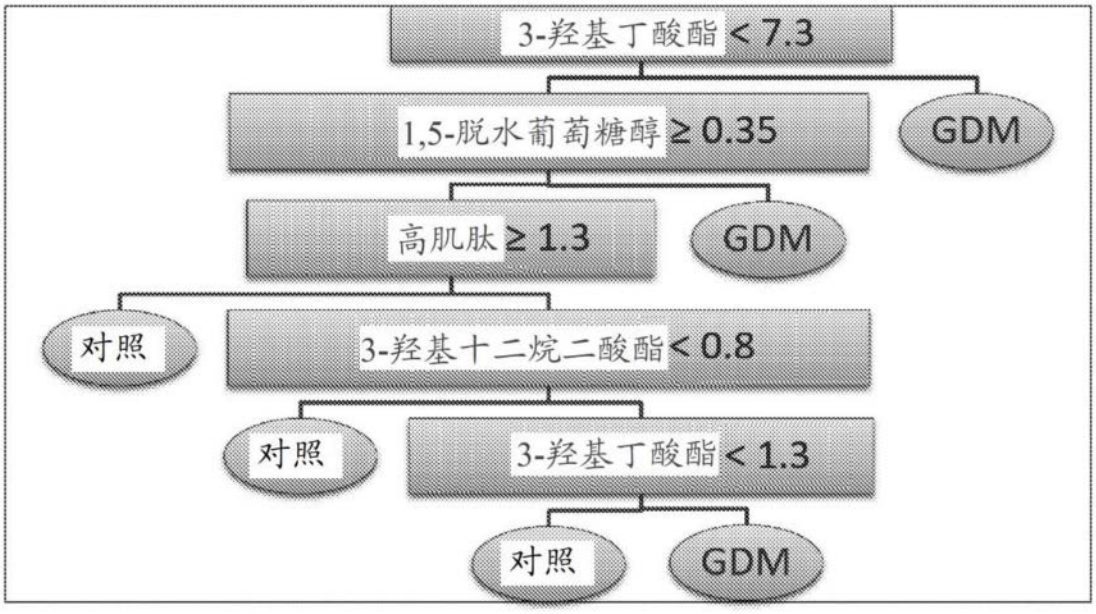

3-羟基丁酸酯 < 7.3
1,5-脱水葡萄糖醇 ≥ 0.35
GDM
高肌肽 ≥ 1.3
GDM
对照
3-羟基十二烷二酸酯 < 0.8
对照
3-羟基丁酸酯 < 1.3
对照
GDM

图3

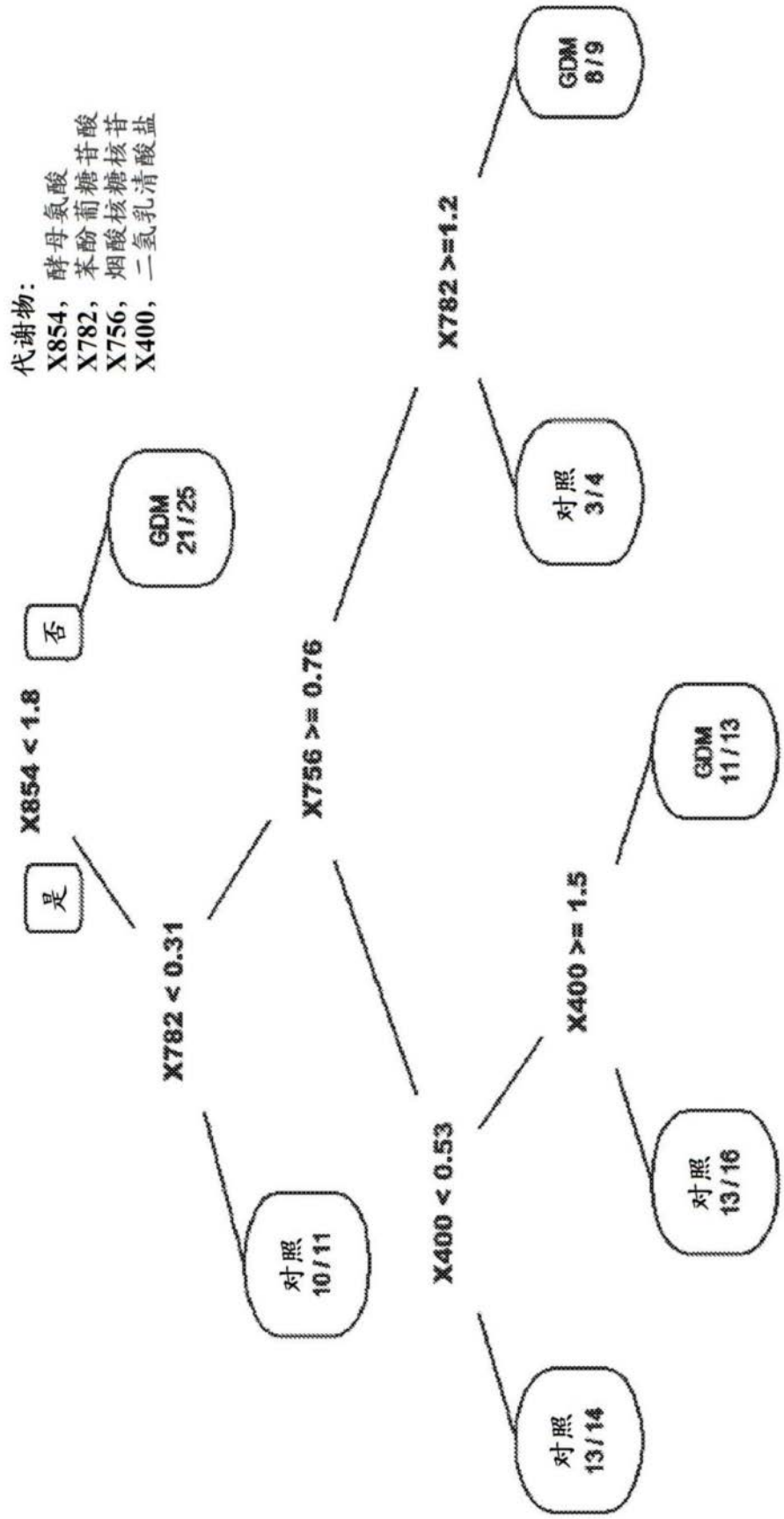

代谢物:
X854，酵母氨酸
X782，苯酚葡糖苷酸
X756，烟酸核糖核苷
X400，二氢乳清酸盐
X854 < 1.8
是
否
GDM 21/25
X782 < 0.31
X756 >= 0.76
X782 >=1.2
GDM 8/9
对照 3/4
对照 10/11
X400 < 0.53
X400 >= 1.5
GDM 11/13
对照 13/16
对照 13/14

图4