

血管内皮生长因子及其受体与可溶性血管内皮生长因子受体-1 对妊娠期糖尿病与围生儿结局的预测价值

汤栩文 谢晓斌 林斯

【摘要】 **目的** 探讨妊娠期糖尿病(GDM)孕妇血清中血管内皮生长因子(VEGF)及其受体(VEGFR)所介导的胎盘血管病变与围生儿结局间的关系,以及血清中可溶性血管内皮生长因子受体(sVEGFR)-1水平,对 VEGF-VEGFR 轴发挥的生物学效应。**方法** 选取 2011 年 1 月至 12 月在本中心被诊断为 GDM、孕龄为 24~28 孕周的孕妇 100 例纳入 GDM 组;选择同期在相同医院常规产前检查、相同孕龄的 50 例正常孕妇,纳入对照组。采集两组孕妇血样,测量糖化指标:空腹血糖(FPG)值,糖化血红蛋白(HbA1c)与 VEGF。GDM 组经常规干预治疗后,再采集血样测定 FPG 值,HbA1c 及 VEGF,并与对照组进行统计学分析。分娩后,收集胎盘,分析胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达。根据 GDM 组孕妇分娩后的围生儿结局,将其分别纳入 GDM 围生儿异常组($n=34$)与 GDM 围生儿正常组($n=66$)(本研究遵循的程序符合本院人体试验委员会所制定的伦理学标准,得到该委员会批准,分组征得受试对象本人的知情同意,并与其签署临床知情同意书)。**结果** ①GDM 组孕妇血清 VEGF 水平、HbA1c 及 FPG 值均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。②GDM 组孕妇经干预治疗后,孕晚期 FPG 明显降低($P<0.05$),HbA1c 与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),血清 VEGF 水平仍保持较高水平。③GDM 组孕妇血清 VEGF 与 sVEGFR-1 水平呈负相关($r=-0.497, P<0.01$)。④与 GDM 组孕妇所分娩围生儿的血清 VEGF 水平显著高于对照组孕妇所分娩围生儿,且差异有统计学意义($P<0.05$)。⑤采用多因素非条件 logistic 回归法对 GDM 组与对照组孕妇血清 VEGF 表达水平的分析结果显示,VEGF 是 GDM 围生儿结局异常的危险因子($OR=5.196, 95\% CI: 1.845\sim 14.610, P<0.001$)。⑥采用 Western 印迹法测定胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达量显示,GDM 围生儿异常组较 GDM 围生儿正常组显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** ①GDM 孕妇血清 VEGF 升高是其围生儿结局的一个不利因素,血清 VEGF 水平高可作为 GDM 不良围生儿结局的预测指标。②血循环中 sVEGFR-1 可通过竞争结合方式中和 VEGF,抑制其下游信号传递。血清低 sVEGFR-1 水平可作为 GDM 病变中 VEGF-VEGFR 轴过度活跃的生物标记。

【关键词】 血管内皮生长因子; 可溶性血管内皮生长因子受体; 妊娠期糖尿病; 胎盘; 围生儿; 预测指标

Study of the Relationship Between Vascular Endothelial Growth Factor and Perinatal Outcome of Gestational Diabetes Mellitus TANG Xu-wen, XIE Xiao-bin, LIN Si. *Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510623, Guangdong Province, China.* (Corresponding author: XIE Xiao-bin, Email: xiaobin_xie97@126.com)

【Abstract】 Objective To explore the relationship between serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors for VEGF(VEGFR) levels in gestational diabetes mellitus (GDM) women and their perinatal outcomes, and biological effects of serum soluble receptors-1 for VEGF (sVEGFR-1) levels of VEGF-VEGFR axis played. **Methods** From January to December 2011, a total of 100 cases pregnant women diagnosed with GDM between 24-28 weeks gestational age were recruitment in this study as GDM group. Meanwhile recruitment of another 50 cases of normal pregnant women of corresponding gestational age as control group. Extracted blood samples of pregnant women in two groups, measure glyated index: Fasting plasma glucose(FPG), HbA1c, VEGF. After intervention treatment to GDM group, measured FPG, HbA1c, VEGF again and comparison to control group. Collected after delivery of placenta cryopreservation

DOI:10. 3877/cma. j. issn. 1673-5250. 2013. 01. 006

基金资助项目:广东省医学科研基金(B2010141);广州市属高校科研项目(10A165)

作者单位:510623 广州,广州市妇女儿童医疗中心(汤栩文、林斯);广州医学院病理学教研室(谢晓斌)

通信作者谢晓斌(Email: xiaobin_xie97@126.com)

for analysis of tissue expression of VEGFR protein. And collection of maternals and infants clinical information. According perinatal outcome of GDM group, pregnant women were divided into perinatal outcome normal group ($n = 66$) and perinatal outcome abnormal group ($n = 34$). Informed consent was obtained from all participants. **Results** ① GDM groups had higher serum VEGF levels, HbA1c and FPG compared with those of control group were much higher, too ($P < 0.05$). ② FPG in GDM group in late pregnancy after intervention treatment, was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$). Level of HbA1c in GDM group and in control group had no significance difference ($P > 0.05$). Level of serum VEGF remained high. ③ In GDM group, maternal serum VEGF and sVEGFR-1 levels were negatively correlated ($r = -0.497, P < 0.01$). ④ Serum VEGF level in perinatal outcome abnormal group had significantly higher than that in perinatal outcome normal group ($P < 0.05$). ⑤ Multivariate unconditional logistic regression analysis showed that VEGF was a predictor of adverse perinatal outcome in GDM ($OR = 5.196, 95\% CI: 1.845-14.610, P < 0.001$). ⑥ Determined by Western blotting of VEGFR protein expression in the placenta was also much higher of pregnant women in perinatal outcome abnormal group than that in perinatal outcome normal group ($P < 0.05$). **Conclusions** ① High serum VEGF is negative factor for the GDM perinatal outcome. High levels of VEGF can be used as a GDM abnormal perinatal outcome predictor. ② sVEGFR-1 may be in the blood circulation by competitive binding VEGF. Inhibition of downstream signal transduction. Lower serum sVEGFR-1 levels could be as the GDM lesions of VEGF-VEGFR axis overactive biomarkers.

【Key words】 vascular endothelial growth factor; soluble receptors-1 for VEGF; gestation diabetes mellitus; placenta; perinatal; predictor

* Project No. B2010141, supported by the Medical Scientific Research Foundation of Guangdong Province, China, and project No. 10A165, supported by the Municipal Education Research Foundation of Guangzhou

目前临床以血糖控制作为妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 治疗与追踪的主要依据。对 GDM 的治疗亦主要通过孕妇饮食控制或胰岛素治疗以防止妊娠期血糖过高。孕妇血糖控制可降低新生儿低血糖和巨大儿发生率, 但并未显著降低新生儿窒息、发育异常、转入监护病房或孕妇先兆子痫的发病率^[1-2]。随着这些研究结果, 有待对目前临床治疗 GDM 所采取的治疗方法和追踪手段中, 可有效降低母婴并发症和不良结局的措施进行重新审视。血管内皮生长因子及其受体 (vascular endothelial growth factor-vascular endothelial growth factor receptor, VEGF-VEGFR) 轴发挥的生物学效应与 GDM 的胎盘血管病变密切相关。本研究拟探讨 GDM 孕妇血中 VEGF 浓度与血糖指标、胎盘病变、母婴并发症的相关性及在预测不良妊娠结局中的价值, 旨在为 GDM 的治疗与追踪寻求更全面、更可靠的补充预测指标。现将研究结果, 报道如下。

1 研究对象及方法

1.1 研究对象及分组

选取 2011 年 1 月 1 日至 12 月 31 日在广州市妇女儿童医疗中心就诊并分娩的 GDM 孕妇 (招募孕龄为 24~28 孕周时被诊断为 GDM 患者) 为研究对象, 纳

入 GDM 组; 招募同期在该院就诊并分娩的 50 例相应孕龄、无妊娠合并症与并发症的正常孕妇纳入对照组。本研究排除标准: 妊娠期高血压疾病、原有糖尿病、先天性心脏病、双胎及多胎妊娠、早产、肝炎、甲状腺功能异常等代谢性疾病、产前发热等炎症急性期孕妇。GDM 诊断标准: 根据“国际糖尿病与妊娠防治研究组 (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups, IADPSG)”2010 年最新发布的《妊娠期高血糖的分类与诊断建议》^[3]。对所有孕妇初次产前检查时测定空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG) (妊娠前确诊为糖尿病患者除外), 若 $FPG \geq 7.0$ mmol/L, 则确诊为显性糖尿病患者, 治疗与随访同于孕前糖尿病患者; 若 $5.1 \text{ mmol/L} \leq FPG < 7.0 \text{ mmol/L}$, 则诊断为 GDM; 若 $FPG < 5.1 \text{ mmol/L}$, 则为正常血糖, 并于孕龄为 24~28 孕周时进行口服葡萄糖耐量试验 (oral glucose tolerance test, OGTT)。IADPSG 75 g OGTT 诊断标准 (孕龄为 24~32 孕周): FPG 界值为 5.1 mmol/L , 1 h 血糖值为 10.0 mmol/L , 2 h 血糖值为 8.5 mmol/L , 若 3 个时间点中任意 1 点血糖值达到或超过以上界值, 即诊断为 GDM。GDM 组与对照组受试对象年龄 [(27.58 ± 3.25) 岁 vs. (28.3 ± 4.1) 岁, $t = 0.781, P = 0.408$]; 孕周 [(29.35 ± 7.20) 孕周 vs. 孕周 (31.35 ± 6.08) 孕周, $t = 0.291, P = 0.732$]; 孕次

[(1.48±0.69)次 vs. (1.87±0.86)次, $t=0.132, P=0.912$]比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。新生儿出生后, GDM 组孕妇新生儿作为高危儿均被收入新生儿病区, 对新生儿出生体重(与孕周是否相符)、先天发育异常、产伤、新生儿窒息、新生儿低血糖及新生儿超声检查或心电图结果、新生儿神经行为评分等进行评估, 将有异常发现和孕期出现母胎并发症孕妇纳入 GDM 围生儿异常组($n=34$); 新生儿评估、检查正常孕妇, 则纳入 GDM 围生儿正常组($n=66$)(本研究遵循的程序符合广州市妇女儿童医疗中心人体试验委员会所制定的伦理学标准, 得到该委员会批准, 分组征得受试对象本人的知情同意, 并为之签署临床研究知情同意书)。

1.2 研究方法

首先, 对 GDM 组孕妇采用监测轮廓血糖以判断其血糖控制情况, 指导其采用糖尿病饮食干预治疗, 并动态观察血糖(3~5)d, 若血糖控制欠佳, 则给予门冬胰岛素注射液(诺和锐, 短效胰岛素)治疗。若血糖控制良好, 则继续以糖尿病饮食干预治疗。然后, 分析 GDM 组与对照组孕妇患者治疗前、后血清中糖化血红蛋白(HbA1c), FPG 值, 并比较两组胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达水平。GDM 组与对照组孕妇均定期产前检查, 分娩后比较 GDM 围生儿异常组与 GDM 围生儿正常组孕妇血清 VEGF 水平。

1.2.1 孕妇血清 VEGF 水平的测定 于 28~32 孕周和分娩时, 分别抽取 GDM 组与对照组孕妇空腹静脉血 2 mL, 于 3000 r/min, 离心半径为 84 mm, 4℃ 条件下离心 5 min, 制备血清保存于 -80℃ 条件, 用于测量糖化指标: FPG 值, HbA1c 及 VEGF, 可溶性血管内皮生长因子受体(serum soluble receptors-1 for VEGF, sVEGFR)-1。VEGF 酶联免疫反应试剂盒(R&D 公司, 美国), 采用竞争性 ELISA 检测, 重复 2 次取平均值, 操作程序严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.2 胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达量测定 采用 Western Blot 检测法测定胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达量。①胎盘组织标本获取: 在胎儿及胎盘娩出后, 于胎盘中央采集标本(1.5 cm×1.5 cm), 厚度必须等于绒毛膜板的全厚度。②标本处理: 标本剪碎后固体于

培养皿中, 加入 1 mL 冷 Lysis Buffer, 采用玻璃匀浆器匀浆; 取组织匀浆液转移至 1.5 mL 预冷离心管, 10 000 r/min 离心, 离心半径为 84 mm, 4℃ 条件下离心 5 min; 取上清转移至新的预冷离心管中, 即为全蛋白提取物, 蛋白定量采用 Bradford 法; 将其分装后保存于 -80℃, 避免反复冻融。③SDS-PAGE 电泳: 取约 20 μg 全蛋白提取物, 采用 9% SDS-PAGE 电泳。④湿法转膜: 电泳后凝胶在转膜液中浸泡 5 min; 装好转膜装置, 进行 90V 恒压电泳 70 min。⑤封闭: 将膜取出, 加入 5% 脱脂奶粉 PBS 溶液; 室温封闭 30 min。⑥一抗、二抗结合: 一抗为 VEGFR 以 1:250 稀释, 室温结合 1 h; 洗膜采用 PBS 洗涤 4 次, 15 min×1 次, 5 min×3 次; 二抗按照 1:500 稀释, 室温结合 1 h; 0.1 mol/L NaOH 洗脱掉抗体后, 进行 β-actin 反应, 抗体以 1:1000 稀释, 方法同上。⑦显影: 取 50 mg/mL NBT 20 μL, 25 mg/mL BCIP 20 μL, 采用 pH 值为 8.0 的 Tris-NaCl 缓冲液稀释至 10 mL, 置于暗盒中, 于摇床上在室温条件下反应 5 min。结果采用图像分析仪分析, 以面积和光密度值的乘积为积分光密度表示。

1.3 统计学方法

本研究数据采用 SPSS 11.5 统计学软件进行统计学处理, 呈正态分布结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本间比较采用 t 检验, 相关性分析采用直线相关与回归分析($\alpha=0.05$)。孕妇血清 VEGF 表达水平分析采用非条件多因素 logistic 回归分析法。以 $P<0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GDM 组及其经干预治疗后与对照组血清 VEGF, sVEGFR-1, HbA1c, FPG 值比较

孕龄为 28~32 孕周时, GDM 组与对照组孕妇血清 VEGF, sVEGFR-1, HbA1c, FPG 值比较(表 1)。GDM 组孕妇经干预治疗后, 血清 VEGF, sVEGFR-1, HbA1c 及 FPG 值与对照组比较(分娩期血液标本)(表 2)。

2.2 GDM 组孕妇血清 VEGF 与 sVEGFR-1 的相关性

GDM 组孕妇血清 VEGF 与 sVEGFR-1 呈负相关

表 1 两组孕妇血清 VEGF, sVEGFR-1, HbA1c 及 FPG 值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of VEGF, sVEGFR-1, HbA1c and FPG between GDM group and control group at 28-32 gestational weeks ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | FPG(mmol/L) | HbA1c (%) | VEGF(pg/mL) | sVEGFR-1(μg/L) |
|-------|-----|-------------|-----------|--------------|----------------|
| GDM 组 | 100 | 6.27±0.88 | 6.45±1.26 | 211.17±27.19 | 16.23±1.57 |
| 对照组 | 50 | 4.81±0.72 | 5.68±0.52 | 94.35±21.18 | 29.36±2.14 |
| t | | 2.87 | 2.61 | 13.34 | 10.42 |
| P | | <0.05 | <0.05 | <0.01 | <0.01 |

表2 GDM组孕妇经干预治疗后,血清VEGF,sVEGFR-1,HbA1c及FPG值与对照组比较($\bar{x}\pm s$)Table 2 Comparison of VEGF,sVEGFR-1,HbA1c and FPG between GDM group after treatment and control group($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | FPG(mmol/L) | HbA1c (%) | VEGF(pg/mL) | sVEGFR-1(μ g/L) |
|------|-----|-----------------|-----------------|--------------------|----------------------|
| GDM组 | 100 | 5.69 \pm 0.74 | 5.71 \pm 0.92 | 204.27 \pm 28.38 | 18.56 \pm 1.61 |
| 对照组 | 50 | 4.70 \pm 0.69 | 5.47 \pm 0.53 | 91.50 \pm 20.42 | 28.15 \pm 1.95 |
| t | | 1.76 | 1.85 | 12.84 | 9.13 |
| P | | >0.05 | >0.05 | <0.01 | <0.01 |

($r=-0.497, P<0.01$), 直线回归分析提示, 二者间的直线关系可以直线回归方程表示为: $Y=0.5167X+1.4683$; 决定系数为 0.7269。

2.3 GDM 围生儿异常组与 GDM 围生儿正常组母亲血清 VEGF 水平比较

围生儿异常组母亲血清 VEGF 水平 [(277.83 \pm 17.11) pg/mL] 高于围生儿正常组母亲 [(192.13 \pm 10.84) pg/mL], 且差异有统计学意义 ($t=2.897, P<0.05$)。

2.4 可能导致出现 GDM 围生儿异常结局的危险因素分析

利用逻辑多元回归运算法进行围生儿异常结局的非条件多因素回归分析, 纳入因素包括: ①GDM 孕妇年龄(X1); ②孕妇血清 VEGF 水平(X2); ③FPG 值(X3); ④孕妇胰岛素治疗状况(X4); ⑤孕妇对血糖的控制情况(X5); ⑥孕妇 HbA1c 水平(X6)。对这 6 种因素采取相应控制, 避免其相互影响。分析结果显示, X2 是 GDM 组围生儿结局异常的危险因素 ($OR=5.196, P<0.001, 95\%CI: 1.845\sim 14.610$)。孕妇血清 VEGF 水平的非条件多因素 logistic 回归模型为: $P=[1/(1+e)]-(-15.130+1.838X2)$ 。

2.5 胎盘组织中 VEGFR 蛋白的相对表达量

GDM 围生儿异常组胎盘组织中 VEGFR 蛋白相对表达量 (0.274 \pm 0.085) 显著高于 GDM 围生儿正常组 (0.127 \pm 0.047) 及对照组 (0.052 \pm 0.018), 差异均有统计学意义 ($P<0.01$)。胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达的 Western blot 电泳图 (图 1)。

3 讨论

GDM 常并发许多母胎并发症, 影响母胎结局。如何预测及降低这些不良并发症的发生, 是 GDM 临床研究关注的焦点^[4]。在母体处于持续 GDM 状态下, 胎盘在诸如组织形态、细胞功能和超微结构等方面均会遭到巨大不良刺激和影响。VEGF 是血管生成关键因子, 是一种对血管内皮细胞有特异高效的促有丝分裂因子^[5], 可控制血管再生和内皮细胞渗透性。VEGF 通过与高亲和力酪氨酸激酶受体 VEGFR 结合, 特异性刺激血管内皮细胞增殖、迁移, 可引起胎盘形态学和分子生物学改变。VEGFR1 属于酪氨酸激酶受体的一种, 与 VEGF 具有很高的结合反应亲和力, 二者经结合能刺激血管内皮细胞增殖和迁移, 并最终参与形成新生血管。胎盘是一充满微细血管网络的器官, 在胎盘血管发育、胎儿的宫内生长过程中, VEGF 发挥着重要作用。研究发现, VEGF 在受精卵着床过程中发挥重要作用, 并参与整个妊娠期胎盘生长过程的血管形成, 妊娠后胎盘组织 VEGF mRNA 表达与胎盘 VEGF 水平均明显上升^[6]。在胎盘血管发育、胎儿宫内生长过程中, VEGF 发挥着重要的作用。sVEGFR-1 存在于滋养层细胞, 内源性及重组真核表达的 sVEGFR-1 均可阻断 VEGF 与 VEGFR 的生物学活性^[7]。究其可能原因, 一方面 sVEGFR-1 可直接与膜表面受体 VEGFR-1 竞争性结合 VEGF; 另一方面 sVEGFR-1 能与膜表面受体 VEGFR-1 及 KDR 形成异源二聚体, 从而完全阻断 VEGF 的生物学功能。一般认为稳态下 sVEGFR-1 作为一种内源性血管形成抑止剂, 充当血管形成的反馈机制。

目前对 GDM 治疗主要通过孕妇饮食控制或胰岛素治疗, 以防止妊娠期血糖过高。2008 年, 高血糖和不良妊娠结局 (hyperglycemia and adverse pregnancy outcome, HAPO) 研究结果表明: 随着孕妇血糖逐渐升高, 妊娠结局风险是连续缓慢增加的^[8]。然而, 关于治疗是否能改善妊娠结局, 迄今尚无定论。经统计, 2011 年内在本院进行产前检查及分娩孕妇共计 11 295 例, 其中孕龄为 24~28 孕周时被确诊为 GDM 孕妇为 784 例。本研究结果显示, GDM 组孕妇

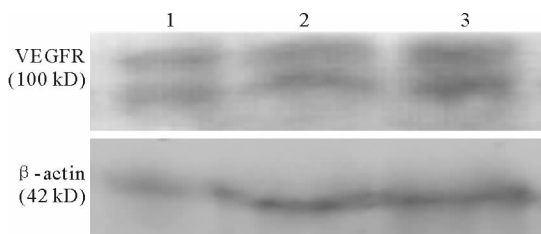


图1 胎盘组织中 VEGFR 蛋白的表达结果(1:对照组;2:GDM 围生儿正常组;3:GDM 围生儿异常组)

Figure 1 The expression of VEGFR protein in placental tissue (1: Control group; 2: Normal perinatal child of GDM; 3: Abnormal perinatal child of GDM)

血清 VEGF, HbA1c 及 FPG 值均明显高于对照组 ($P < 0.05$)。GDM 孕妇经干预治疗后,其孕晚期时血糖明显降低, HbA1c 与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但血清 VEGF 水平仍保持较高水平。这提示,如果对 GDM 孕妇在孕中期进行治疗,其血糖于孕晚期时可降至正常范围;但 VEGF 表达在孕中期与晚期均处于较高水平。这是因为导致 VEGF 高表达的最重要因素是缺氧缺血,而 GDM 患者的生理特征就是血糖及糖基化终末产物处于较高水平,并伴随着程度严重的缺氧缺血,所有上述因素共同促发 VEGF 过度表达^[9]。VEGFR-1 作为可与 VEGF 进行高亲和力结合的酪氨酸激酶受体,与 VEGF 结合后,通过刺激血管内皮细胞增殖与迁移,参与到新生血管最终形成,可引起胎盘形态学和分子生物学改变^[7],与胎盘血管病变密切相关。GDM 孕妇高 VEGF 血症可能导致胎儿出现生长发育异常,并引起新生儿患病率升高。本研究结果表明,GDM 围生儿异常组母亲较 GDM 围生儿正常组母亲的血清 VEGF 水平显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。多因素非条件 logistic 回归分析结果提示,VEGF 是 GDM 不良围生儿结局的危险因子 ($OR = 5.196, 95\% CI: 1.845 \sim 14.610, P < 0.001$)。采用 Western blot 蛋白印迹法测定胎盘组织中 VEGFR 蛋白表达量在 GDM 围生儿异常组亦较高。这提示高 VEGF 血症是 GDM 围生儿结局的不利因素之一,胎盘检测也证实 GDM 围生儿不良结局的胎盘组织 VEGFR 蛋白呈高表达。因此,本研究结果显示,①血清 VEGF 高水平可作为 GDM 不良围生儿结局的预测指标。GDM 组孕妇血清 VEGF 与 sVEGFR-1 水平呈负相关 ($r = -0.497, P < 0.01$),因为在血循环中 sVEGFR-1 可通过竞争结合方式中和 VEGF,抑制其下游信号传递。②血清低 sVEGFR-1 水平可作为 GDM 病变中 VEGF-VEGFR 轴过度活跃的生物标记。由于本研究受时间及经费等条件限制,无法追踪和随访全部 GDM 患者。后续研究尚待对 GDM 患者血清 VEGF 水平进一步追踪。

参 考 文 献

1 Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, *et al.* Effect of treatment of 汤翔文,谢晓斌,林斯.血管内皮生长因子及其受体与可溶性血管内皮生长因子受体-1 对妊娠期糖尿病围生儿结局的预测价值 [J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版,2013,9(1):22-26.

gestationaldiabetes mellitus on pregnancy outcomes[J]. N Engl J Med,2005,352(24): 2477-2486.

2 Rowan JA. A trial in progress; Gestational diabetes. Treatment with metformin compared with insulin (the metformin in gestational diabetes [MiG] trial)[J]. Diabetes Care,2007,30 (Suppl 2): S214-219.

3 Gestational diabetes mellitus; NICE for the USA. Comparison of the American Diabete Association and the American College of Obstetricians and Gynecologists guidelines with the U. K. National Institute for health and clinical excellence guidelines[J]. Diabetes Care,2010,33(1):34-37.

4 Xu Y, Zhang YP, Liu XH. Incidence and associated factors of abnormal glucose metabolism [J/CD]. Chin J Obstet Gynecol Pediatr; Electron Ed, 2008,4(2):87-90. [徐艳,张运平,刘晓红.妊娠期糖代谢异常的发病情况及相关因素探讨[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版,2008,4(2):87-90.]

5 Marini M, Vichi D, Toscano A, *et al.* Effect of impaired glucose tolerance during pregnancy on the expression of VEGF receptors in human placenta[J]. Reprod Fertil Dev,2008,20(7): 789-801.

6 Salim MD, Al-Matubsi HY, El-Sharaky AS, *et al.* The levels of vascular endothelial growth factor-A and placental growth factor-2 in embryopathy associated with experimental diabetic gestation[J]. Growth Factor,2009,27(1):32-39.

7 Wathen KA, Sarvela J, Steenman F, *et al.* Changes in serum concentrations of soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 after pregnancy[J]. Hum Reproduct, 2011,26(1):221-226.

8 Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, *et al.* Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study Cooperative Research Group. N Engl J Med, 2008,358(19):1991-2002.

9 Chen Z, Yin YX, Xu JJ. Expression and significance of vascular endothelial growth factor and its receptor Fms-like tyrosine kinase-1 in placenta for patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy[J/CD]. Chin J Obstet Gynecol Pediatr : Electron Ed, 2011,7(6): 531-533. [陈忠,印永祥,许建娟.血管内皮生长因子及其受体在妊娠期肝内胆汁淤积症患者胎盘中的表达及其意义[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版,2011,7(6):531-533.]

(收稿日期:2012-11-05 修回日期:2013-01-09)