

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.10.015
文章编号: 1005-8982 (2018) 10-0084-05

体外受精-胚胎移植超促排卵周期中金属蛋白酶3、 肿瘤坏死因子、血管内皮生长因子的表达 与卵巢反应性的研究*

金锐, 包俊华, 赵亚琼, 刘芳, 唐大伟, 白刚, 刘丽丽, 赵静
(宁夏银川市妇幼保健院, 宁夏 银川 750001)

摘要: 目的 分析在体外受精-胚胎移植 (IVF-ET) 超促排卵周期中不孕妇女血清及卵泡液中的金属蛋白酶3 (MMP-3)、肿瘤坏死因子 (TNF)、血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达, 了解 MMP-3、VEGF 及 TNF 在其中的分布特点, 分析其与卵巢反应的相关性。**方法** 收集 2013 年 3 月-2015 年 10 月行 IVF-ET 治疗的 413 例超促排卵周期的患者, 不孕原因均为输卵管因素, 年龄 22 ~ 38 岁, 依据患者获卵数分为高反应组 (获卵数 ≥ 20 个)、正常反应组 (获卵数 6 ~ 19 个) 及低反应组 (获卵数 ≤ 5 个), 分别用酶联免疫方法测定各组在促性腺激素 (Gn) 起始注射日、绒毛膜促性腺激素 (hCG) 注射日血清及卵泡液中 VEGF、TNF 及 MMP-3 的水平, 分析组间的差异。**结果** 在 3 组患者的基本情况差异无统计学意义的情况下: ① 3 组患者 hCG 日血清 MMP-3 和 VEGF 的表达均高于 Gn 启动日 ($P < 0.05$); ② 3 组患者 hCG 日血清中 TNF 的表达低于 Gn 启动日 ($P < 0.05$); ③ 高反应组患者卵泡液中 MMP-3 的表达均高于正常反应组和低反应组 ($P < 0.05$); ④ 高反应组患者卵泡液中 VEGF 和 TNF 的表达均低于正常反应组和低反应组。 ($P < 0.05$)。**结论** ① 随着促排卵过程中卵泡的发育, 血清中 VEGF 和 MMP-3 的表达增多, TNF 则随着卵泡的发育逐渐减少; ② 经超排卵后患者卵泡液中 MMP-3 表达与卵巢反应呈正相关, 而 VEGF 和 TNF 与卵巢反应呈负相关。

关键词: 体外受精-胚胎移植; 超促排卵; 血管内皮生长因子; 肿瘤坏死因子; 金属蛋白酶3; 卵巢反应性

中图分类号: R711.6

文献标识码: A

Relationships of MMP-3, TNF and VEGF in serum and follicular fluid with ovarian response during IVF-ET cycles*

Rui Jin, Jun-hua Bao, Ya-qiong Zhao, Fang Liu, Da-wei Tang, Gang Bai, Li-li Liu, Jing Zhao
(Yinchuan Women and Children Health Care Hospital, Yinchuan, Ningxia 750001, China)

Abstract: Objective To study of the levels of matrix metalloproteinase 3 (MMP-3), tumor necrosis factor (TNF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum and follicular fluid during *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET) cycles and their relationships with ovarian response. **Methods** Totally 413 infertile female patients were under investigation. According to the number of eggs obtained, they were divided into high reaction group (eggs obtained ≥ 20), normal reaction group (6-19 eggs obtained) and the low reaction group (eggs obtained ≤ 5). The levels of MMP-3, TNF and VEGF in serum and follicular fluid were measured by ELISA on the gonadotropin (Gn) initial injection day and the human chorionic gonadotropin (hCG) injection day. The differences among the groups were analyzed. **Results** The serum expressions of MMP-3 and VEGF on the hCG injection day were significantly higher than those on the Gn initial injection day in all the 3 groups ($P < 0.05$). The serum expression of TNF on the

收稿日期: 2017-07-28

* 基金项目: 宁夏自然科学基金 (No: NZ14249)

[通信作者] 包俊华, E-mail: mj980613@126.com; Tel: 13995389576

hCG injection day was lower than that on the Gn initial injection day in the 3 groups ($P < 0.05$). The level of MMP-3 in the follicular fluid of the high reaction group was higher than that of the normal reaction group and the low reaction group ($P < 0.05$). The levels of VEGF and TNF in the follicular fluid of the high reaction group were lower than those of the normal reaction group and the low reaction group ($P < 0.05$). **Conclusions** With the development of follicles during ovulation promotion, the serum expressions of VEGF and MMP-3 increase and TNF gradually decreases. After hyperstimulation of ovulation the expression of MMP-3 in follicular fluid is positively correlated with ovarian response, while VEGF and TNF are negatively correlated with ovarian response.

Keywords: *in vitro* fertilization-embryo transfer; ovarian hyperstimulating cycle; vascular endothelial growth factor; tumor necrosis factor; matrix metalloproteinase 3; ovarian response

随着人类辅助生殖技术的广泛开展和超促排卵药物的普遍使用, 卵巢的不同反应所致的各种并发症日益引起临床医师的重视, 评估在超促排卵过程中的卵巢微环境对卵巢反应性的影响^[1], 了解卵巢微环境的变化, 帮助临床医师合理使用超促排卵药物, 改善促排周期的妊娠情况。本文着重分析探讨在控制性超排卵治疗周期中, 在使用大剂量的促排卵药物后, 不孕妇女的血清及卵泡液中金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase-3, MMP-3)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 的表达差异, 分析 MMP-3、VEGF 及 TNF 与卵巢反应性的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2013 年 3 月-2015 年 10 月在银川市妇幼保健院生殖中心行体外受精-胚胎移植 (*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET) 治疗, 年龄 22 ~ 38 岁, 月经规律, 排卵正常, 排除子宫内膜异位症及反复流产病史, 且配偶精液检验正常 (世界卫生组织第五版分析标准), 均采用黄体期长方案的 413 例周期不孕妇女。收集这部分患者在使用促性腺激素 (Gonadotrophin, Gn) 启动日和绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG) 注射日的血清标本, 并在患者取卵时收集其卵泡液。根据患者获卵数分为 3 个组: 获卵数 ≥ 20 个的为高反应组, 获卵数在 6 ~ 19 个的为正常反应组, 获卵数 ≤ 5 个的为低反应组。

1.2 方法

1.2.1 控制性超排卵方案 采用黄体期长方案。治疗前 1 周期的黄体中期肌内注射 (肌注) 长效 GnRHa (曲普瑞林, 1.0 mg/支, 德国辉凌制药有限公司), 达到垂体降调节标准 (FSH、LH 均 < 5 IU/L, E2 < 50 ng/L, 子宫内膜厚度 < 5 mm, 双侧卵巢无囊肿) 后, 在月

经 3 ~ 5 d 时肌内注射 (肌注) Gn。经阴道 B 超监测卵泡的生长, 待双侧卵巢中有 2 个卵泡平均直径 > 19 mm 时, 患者停止使用 Gn, 改为肌注 hCG, 将此日设定为 hCG 日; 在使用 hCG 34 ~ 36 h 后患者在阴道 B 超的引导下抽取卵泡液, 将卵泡液送至实验室并在显微镜下捡拾卵子。

1.2.2 卵子的受精及胚胎培养 将抽吸卵泡液获得的卵子移入浓度为 6% 二氧化碳 CO₂ 培养箱中培养 2 ~ 4 h, 与优化的精子结合, 形成受精卵后将其移入胚胎培养试剂中继续在体外培养 3 ~ 5 d, 并对形成的胚胎进行评估打分。胚胎形态学评分标准为: 1 分: 胚胎卵裂球大小如碎片一般, 不一致, 不对称, 无核碎片 $> 50\%$, 胞浆颗粒粗糙; 2 分: 胚胎胞浆浓缩, 质地粗糙, 无核碎片占 20% ~ 50%, 卵裂球大小明显不均一; 3 分: 胚胎胞浆饱满, 质地略有不均, 无核碎片 10% ~ 20%, 卵裂球大小轻度不对称, 不一致; 4 分: 胚胎胞浆饱满, 质地均匀, 无核碎片 $\leq 5\%$, 卵裂球大小均一, 对称。在取卵后第 3 天对具有移植指针的患者选择评分在 3 ~ 4 分的优质胚胎 1 ~ 3 个进行子宫腔内移植。

1.2.3 患者的黄体支持及妊娠确认 移植术后对患者采用肌注或口服黄体酮进行黄体支持, 14 d 后检测患者血清及尿液 hCG, 确认是否妊娠。14 d 后患者行 B 超检查, 如子宫内见妊娠囊、胎芽及胎心搏动可确诊为临床妊娠。

1.2.4 材料与试剂 血清及卵泡液的收集分别于患者肌注 Gn 日、肌注 hCG 日收集患者血清 2 ml, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液置 -20°C 冰箱保存待检。于取卵日选取穿刺含有卵母细胞, 无血染, 颜色为淡黄色, 清亮, 未被稀释的卵泡液, 收集在无菌 14 ml 离心管中离心, 3 000 r/min 15 min, 取出上清液, 置 -20°C 冰箱保存待检。

患者的卵子受精及胚胎培养用瑞典 Vitrolife 公司生产的 G5 系列培养液进行。所用的培养皿为美国

FLCON 公司生产的型号为 3037、3003 及 3066 培养皿。

VEGF、TNF 及 MMP-3 的检测采用定量酶联免疫法。采用双抗体夹心酶联米易吸附测定方法测定卵泡液和血清中的 VEGF、TNF 及 MMP-3 水平。试剂盒购自美国 R&D 公司。实验操作按试剂盒说明书进行。批次和批间差异 <10%。

1.2.5 仪器与设备 培养患者卵子和胚胎的培养箱为日本三洋 CO₂ 培养箱。采用美国 Thermo MK3 系列酶标仪进行测量血清及卵泡液中的 MMP-3、VEGF 及 TNF。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.5 统计学软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间采用方差分析, 在方差分析有意义的基础上, 行 LSD-*t* 检验进行两两比较, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基本资料

共纳入 413 例周期的患者, 高反应周期有 119 例, 正常反应周期有 218 例, 低反应周期有 76 例。这些患者的年龄、BMI、不孕年限组间比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 1。

2.2 患者促排卵过程血清中 VEGE、TNF、MMP-3 的水平变化

413 个周期的患者, 在超促排卵过程中, 随卵泡

表 1 患者基本资料 ($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄 / 岁	BMI / (kg/m ²)	不孕年限 / 年
高反应组 (n=119)	30.34 ± 3.80	25.14 ± 5.10	3.78 ± 0.31
正常反应组 (n=218)	31.59 ± 4.20	28.42 ± 6.33	3.87 ± 0.29
低反应组 (n=76)	34.41 ± 4.44	29.29 ± 6.21	4.62 ± 0.39
<i>F</i> 值	0.186	0.611	-0.112
<i>P</i> 值	0.853	0.543	0.911

发育, 各组患者血清中 MMP-3 和 VEGF 的水平呈上升趋势。注射 hCG 日血清中 MMP-3 和 VEGF 的水平与肌注 Gn 日比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。注射 hCG 日血清中 MMP-3 和 VEGF 水平高于肌注 Gn 日血清的 MMP-3 和 VEGF 水平。在超促排卵过程中, 随着卵泡的发育, 各组患者血清中 TNF 水平比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), Gn 启动日高于肌注 hCG 日。见表 2。

2.3 患者卵巢反应性与卵泡液中 MMP-3、VEGF 及 TNF 水平的关系

3 组患者卵泡液中 MMP-3、VEGF 及 TNF 水平比较, 组间差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。高反应患者卵泡液中 MMP-3 水平高于正常反应组和低反应组患者。而卵泡液中 VEGF 和 TNF 的水平恰恰相反, 高反应组患者的水平低于正常反应组和低反应患者的水平。见表 3。

表 2 各组患者血清 MMP-3、TNF、VEGF 注射 Gn 及注射 hCG 日血清水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MMP-3 / (ng/ml)		VEGF / (mg/L)		TNF / (pg/ml)	
	Gn 日	hCG 日	Gn 日	hCG 日	Gn 日	hCG 日
高反应组 (n=119)	25.16 ± 9.23	53.16 ± 7.89	523.34 ± 46.89	1 543.45 ± 124.56	39.23 ± 4.09	26.56 ± 2.34
正常反应组 (n=218)	23.34 ± 6.14	23.47 ± 6.24	467.23 ± 23.56	1 324.34 ± 107.69	42.34 ± 6.26	30.24 ± 3.23
低反应组 (n=76)	18.19 ± 4.26	18.29 ± 4.19	356.24 ± 18.79	1 108.34 ± 109.45	47.18 ± 3.42	32.13 ± 4.32
<i>F</i> 值	1.610	1.820	0.590	0.490	0.910	0.130
<i>P</i> 值	0.006	0.004	0.002	0.019	0.040	0.002

表 3 患者卵泡液中 VEGF、TNF 及 MMP-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MMP-3 / (ng/ml)	TNF / (pg/ml)	VEGF / (mg/L)
高反应组 (n=119)	55.02 ± 10.14	47.6 ± 4.23	1 844.19 ± 331.32
正常反应组 (n=218)	38.89 ± 7.23	50.7 ± 5.45	1 608.53 ± 328.22
低反应组 (n=76)	29.19 ± 5.03	51.99 ± 3.25	2 270.39 ± 234.19
<i>F</i> 值	0.141	0.781	0.207
<i>P</i> 值	0.011	0.000	0.010

3 讨论

卵泡液是卵巢中卵子及颗粒细胞生长发育的 microenvironment。卵泡液是由卵巢局部分泌物和血浆的渗出物共同组成的, 在卵子的生长、发育、排出、闭锁中起至关重要的调控作用^[2]。在 IVF-ET 的超促排卵过程中, 在外源性促性腺激素的作用下, 卵泡内的细胞分泌不同的细胞因子形成复杂的网络体系, 协同发挥生物活性功能^[3], 直接或间接地影响着卵母细胞的发育、分裂、生存及以后的受精、胚胎形成及着床^[4]。

MMPs 家族是 1 个大家族, 目前已分离鉴别出 20 个成员, 编号分别为 MMP 1 ~ 20, 它们是一组锌离子依赖性肽链内切酶, 大小各异, 底物不尽相同, 能裂解维系蛋白结构的肽链, 主要参与结缔组织的降解^[5]。MMPs 在卵泡生长发育中的作用主要是可以精确调控在卵泡生长发育中卵巢内细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 成分的降解和重塑, MMPs 通过调节卵巢结构成分的动态周期性变化, 对卵泡和黄体功能发挥作用。在排卵过程中, 包括卵泡生长和卵泡破裂释放出成熟的卵母细胞以及颗粒细胞的黄素化, 这些都涉及到广泛的血管发生和卵巢组织重建^[6]。迄今为止, 已经发现有多种 MMPs 参与了卵泡生长和排卵的过程。本研究测定分析了在控制性排卵过程中, 卵巢高反应的患者、正常反应患者以及卵巢低反应患者血清及卵泡液中的 MMP-3 的表达, 可以看到血清中 MMP-3 的表达随着获卵数目的增加而有所增加, 卵巢高反应的患者有较高的 MMP-3 水平, 与此同时妊娠的患者中 MMP-3 的表达较未妊娠的患者高^[7], 所以, 血清中 MMP-3 可以作为预测卵巢反应性和成功妊娠的早期指标, 从而有利于临床早期干预。

TNF 是肌肉细胞源性具有多向性作用的细胞因子, 主要由活化的巨噬细胞、NK 细胞及 T 淋巴细胞产生。参与细胞的增殖和凋亡等过程与慢性乙肝、自身免疫性疾病、胰岛素抵抗、肿瘤等多种疾病的易感性相关^[8]。TNF 在卵巢上主要由颗粒细胞和巨噬细胞产生, TNF 参与排卵, 但当其水平较高时可抑制颗粒细胞上胰岛素样生长因子 1 诱导的 E2 的合成和卵泡膜上 LH 诱导的雄烯二酮的合成, 从而影响卵泡的发育^[9]。在超排卵过程中, TNF 水平随着卵泡生长成熟逐渐降低, 通过抑止颗粒细胞对雌二醇及孕酮的合成对促性腺激素的反应下降。与此同时 TNF 可以促进 MMP-3 的活性, 促使排卵发生, 同时导致排卵后的卵泡黄素化、血管化, 所以当接近排卵时, 在 TNF 的作

用下卵泡液中的 MMP-3 和 VEGF 水平均呈现上升的趋势^[10]。

VEGF 在维持卵巢正常功能上起重要作用, 对卵泡生长、黄体分化、卵母细胞的成熟及受精是十分重要的^[11]。在卵泡生长的过程中, 卵泡液中的 VEGF 诱导卵泡周围的微血管形成, 促进血液中的 FSH 和 LH 更好地作用于卵母细胞, 从而促进了卵母细胞的生长和成熟^[12]。同时卵巢中的颗粒细胞中 VEGF 的表达受促性腺激素和 TNF 等因子的调节, 在卵泡期增加其通透性, 促进卵泡液聚集, 利用前体物质如脂质的运输^[13], 为激素的合成提供条件。在控制性超促排卵过程中, 颗粒细胞、卵泡膜细胞分泌的 VEGF 促使卵泡周围的微血管生成, 从而使得卵泡有机会获得更多的激素或营养物质, 进而促进卵泡的发育^[14]。

血清中的 MMP-3、TNF 及 VEGF 等只是众多卵巢卵泡发育微循环中的一员, 对于各个因子的相互调节, 互相平衡^[15], 需要更进一步地研究。分析卵泡液中的细胞因子的变化可以作为 IVF-ET 过程中一个辅助检查部分, 帮助临床医师更好地指导临床用药, 改善 IVF-ET 中超促排卵中卵子发育的情况, 提高获得卵母细胞质量, 进而提高 IVF-ET 的妊娠结局。

参 考 文 献:

- [1] 李斌, 杜兴贵, 姚俊霞, 等. MMP-9 和 TIMP-1 在不明原因不孕者子宫内膜的表达 [J]. 中国热带医学, 2008, 8(10): 1701-1703.
- [2] 尚定昆, 郑晓群, 颜卫华, 等. TH1/TH2 细胞因子与习惯性流产的关系研究 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2008(4): 30-32.
- [3] 姜晓媛, 孙振高, 连方, 等. 卵泡液代谢组学研究进展 [J]. 生殖医学杂志, 2013(11): 888-892.
- [4] 于康, 王海涛, 张鹏, 等. 卵泡液微环境对卵母细胞发育的影响 [J]. 齐鲁医学杂志, 2011(1): 90-92.
- [5] 王秀霞, 王天任, 易晓芳, 等. 卵泡液中 TNF- α 和 IFN- γ 与颗粒细胞凋亡关系的探讨 [J]. 生殖与避孕, 2010(8): 519-522.
- [6] 张玲, 熊承良. 颗粒细胞核卵泡液因子在评估卵母细胞质量中的价值 [J]. 生殖与避孕, 2010(12): 827-831.
- [7] BAKA S, ZOULA K, MALAMITSI-PUCHNER A, et al. Intrafollicular levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in patients with polycystic ovaries are not associated with pregnancy rate during IVF cycle [J]. In Vivo, 2009, 23(1): 89.
- [8] RODRIGUEZ D, MORRISON C J, OVERALL C M. Matrix metalloproteinases: What do they not do? New substrates and biological roles indentified by murine models and proteomics [J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Molecular Cell Research, 2010, 1803 (1): 39-54.
- [9] LAHAV-BARATZ S, KRAIEM Z, SHILOH H, et al. Decreased expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in

- follicular fluid from women with polycystic ovaries compared with normally ovulating patients undergoing in vitro fertilization[J]. Fertility and Sterility, 2003, 56(2): 223-228
- [10] DOMINGUEZ M A, PETRE M A, NEAL M S, et al. Bisphenol a concentration-dependently increases human granulosa-lutein cell matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) enzyme output[J]. Reproductive Toxicology, 2008(25): 420-425.
- [11] QIAO J, FENG H L. Extra-and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: impact on oocyte maturation and embryo developmental competence[J]. Human Reproduction Update, 2011, 17(1): 17-33.
- [12] BREW K, NAGASE H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1803(2010), 55-71.
- [13] KIM K H, OH D S, JEONG J H, 梅林琳. 卵泡血流量是 1 个比卵泡液血管内皮生长因子和一氧化碳浓度更好的预测体外受精胚胎移植结局的指标 [J]. 世界核心医学期刊文摘: 妇产科学分册. 2005(5): 21-22.
- [14] 夏兰, 赵晓明, 孙赟, 等. 反复 IVF 失败患者卵泡液代谢组学的检测分析 [J]. 生殖与避孕, 2012(4): 248-253.
- [15] 张娜, 甄秀丽, 张轶, 等. 卵泡液中活性氧对体外受精-胚胎移植结局的影响 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2013(9): 111-112.

(张西倩 编辑)

《中国现代医学杂志》投稿须知

《中国现代医学杂志》创刊于 1991 年, 期刊号 ISSN1005-8982/CN43-1225/R, 旬刊, 系中国科技论文统计源期刊、北大中文核心期刊、中国核心学术期刊 (RCCSE) (A-) 及湖南省十佳期刊, 被中国知网、万方数据库、超星域出版、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ) 等国内外多个检索系统收录, 公开发行。本刊是中华人民共和国教育部主管的综合性医学学术期刊, 以服务于广大医药卫生科技人员, 促进国内外医学学术交流和医学事业发展为宗旨。由中南大学、中南大学湘雅医院主办, 湖南省湘雅医学期刊社有限公司出版。

本刊刊登的论文内容涉及基础医学、临床医学、预防医学及医学相关学科的新理论、新技术、新成果以及医学信息、动态等。文稿须具有科学性、创新性、实用性。文字要求准确、通顺、精练。本刊设基础研究·论著、临床研究·论著、综述、新进展研究·论著、临床报道、学术报告、病例报告等栏目。学术报告类论文字数控制在 3000 字以内; 病例报告类论文字数控制在 800 字以内。稿件格式为题名、作者姓名、作者单位、邮编、摘要 (具体要求见投稿细则)、关键词、正文、参考文献。

本刊对国家级的科研成果或阶段性成果及部级以上课题项目的进展报道实行速审快发。一般稿件 2 个月内有评审结果, 录用后等待发表。请作者自行登录本刊网站 (www.zgxdyx.com) 查询稿件处理结果, 恕不另行通知。稿件发表后, 赠当期杂志 2 本。

投稿细则

1. 文稿力求文字精练、准确、通顺; 文题简明、醒目, 能反映出文章的主题; 勿用不规范字。请作者仔细校对全文, 并认真复核数据。摘要应与正文内药物剂量、病例数、百分比等数据一致。如有错误, 将降低审稿人和编辑对该文真实性的信任度, 导致退稿。	6. 所有栏目需附关键词 3 ~ 5 个, 其中临床报道、学术报告和病例报告只需中文关键词, 其余栏目需中英文关键词齐全。
2. 文题中不使用英文缩略语。摘要中一般也不使用英文缩略语, 如因为该词出现多次而需要使用时, 应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文缩略语 (此处不需写出英文全称)。正文中首次使用英文缩略语时, 也应于首次出现处先写出中文全称, 然后括号内注明英文全称及英文缩略语。此规则对已公知、公用的缩略语除外。	7. 照片、图片 (黑白原始照片必须清晰, 大小 5 cm × 7 cm), 须在文章内标明其位置, 并附标题, 显微镜下照片应标明放大倍数, 图背面标明作者姓名、文章编号、图序及照片方向 (上、下)。
3. 单位介绍信原件, 注明稿件非一稿多投。采用网上投稿方式时, 请将该介绍信照片插入提交的论文 Word 文稿第一页。	8. 所有栏目参考文献须引用 10 条以上, 以近 5 年文献为主。引用期刊的格式为: 作者. 文题. 刊名, 年, 卷 (期): 起止页码.; 引用书籍的格式为: 著者. 书名. 版次. 出版社: 年份: 起止页码.; 每条参考文献应列出作者姓名, 如超过 3 名者, 则在 3 名作者后写等。中文格式: 解勤之, 陈方平, 蹇在伏, 等. 红细胞收缩: 血小板无力症的可能代偿机制 [J]. 中国医学工程, 1998, 8(11): 3-5. 英文格式: SZEMAN B, NAGY G. Changes in cognitive function in patient with diabetes mellitus[J]. Orv Hetil, 2012, 153(9): 323-329.
4. 所有栏目投稿的中英文论文题目、作者姓名及作者单位需齐全 (每位作者只标注一个主要单位, 其余的可以作者简介方式在首页左下角注明, 标注通信作者的必须留下通信作者本人的电话或电子邮箱, 以便核实)。	9. 综述第一作者须有副高以上职称证明 (参考文献 35 条以上)。
5. 栏目对中英文摘要的要求: 论著、临床论著、新进展研究需中英文摘要齐全, 并按目的、方法、结果、结论四要素书写, 200 ~ 500 个字。综述需中英文摘要齐全, 不需按四要素书写。临床报道和学术报告只需中文摘要, 病例报告无需中英文摘要。	10. 凡国家、省部级自然科学基金、博士基金、863 计划及国家重点实验室项目的论文, 请注明基金名称及编号并附相关项目批准文件或任务书复印件, 可优先发表。项目主要负责人为通信作者。采用网上投稿方式时, 请将相关证明材料的照片插入提交的论文 Word 文稿最后一页。