

· 基础研究 ·

超短波对大鼠晶状体上皮细胞凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

王中莉 苑秀华 林阳阳 顾旭东 姚云海 王晶 傅建明

【摘要】目的 观察小剂量超短波对大鼠晶状体上皮细胞 (LEC) 凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达水平的影响。**方法** 将健康 4 周龄 Wistar 大鼠 36 只 (共 72 只眼) 按随机数字表法选取 4 只大鼠 (8 只眼) 作为正常组, 16 只大鼠 (32 只眼) 作为实验组 (接受小剂量超短波照射, 每次 7 min, 1 次/日), 16 只 (32 只眼) 作为对照组 (不接受超短波照射), 分别于实验第 1、3、6 和 9 周四个观察时间点同步处死实验组和对照组大鼠 (每个时间点 4 只大鼠 8 只眼)。采用无菌操作摘取大鼠双眼, 并在手术显微镜下分离晶状体, 制备大鼠晶状体石蜡切片, 进行免疫组化链霉亲和素-生物素复合物 (SABC) 染色, 应用图像分析技术对 LEC 的 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达水平进行检测, 所得数据使用 SPSS 13.0 版统计软件进行分析处理。**结果** 实验组, 在照射 1、3、6 和 9 周后的 Bcl-2 表达平均积分光密度 (AIOD) 值分别为 (0.391 ± 0.014) 、 (0.447 ± 0.006) 、 (0.417 ± 0.011) 、 (0.275 ± 0.007) , 而 Bax 表达的 AIOD 值分别为 (0.180 ± 0.015) 、 (0.155 ± 0.007) 、 (0.167 ± 0.003) 、 (0.251 ± 0.016) 。照射 1 周后, 实验组与对照组比较, 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 照射 3 周实验组与对照组相比, 其 Bcl-2 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$), 且 Bax 明显减少 ($P < 0.01$); 实验组照射 6 周后的 Bcl-2 与照射 3 周后的相比, 有所下调但仍较对照组的表达高, 且差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 而实验组 Bax 的表达有所上调但较对照组表达低, 且差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 照射 9 周后, 实验组的 Bcl-2 表达明显下降, 且远低于对照组 ($P < 0.01$), Bax 表达亦较对照组明显增加 ($P < 0.01$)。对照组上述各时间段大鼠的 Bcl-2 及 Bax 的表达与正常组相比, 均无明显变化 ($P > 0.05$)。**结论** 小剂量超短波对大鼠 LEC 的凋亡在一定时间内有保护作用, 但随着作用时间的延长可能引起 LEC 损伤。

【关键词】 超短波; 晶状体; 上皮细胞; 细胞凋亡; 基因, Bcl-2

Effects of ultra-shortwave irradiation on the expression of the apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in the lens epithelial cells of the eye Wang Zhongli*, Yuan Xiuhua, Lin Yangyang, Gu Xudong, Yao Yunhai, Wang Jing, Fu Jianming. * The Rehabilitation Center of Jia Xing Second Hospital, Jia Xing 314000, China
Corresponding author: Yuan Xiuhua, Email: yuanxh_6123@sina.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of low-dose ultra-shortwaves radiation on the expression of apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in lens epithelial cells (LECs) of rats. **Methods** Thirty-six Wistar rats were divided into a normal group ($n = 8$ eyes), a control group ($n = 32$ eyes) and an experiment group ($n = 32$ eyes) randomly. Both eyes of each rat in the experiment group were exposed to a low-dose ultra-shortwave radiation for 7 min, once a day until the end of experiment, while the control groups were not. Rats were executed after 1w, 3w, 6w and 9w. Both eyes were resected, and lens were separated under a microscope and sectioned in paraffin. After Streptavidin-Biotin Complex (SABC) staining, Bcl-2 and Bax expression in the LECs were detected using an image analysis technique, and the data were analyzed using the software of SPSS 13.0. **Results** The average integral optical density (AIOD) of Bcl-2 expression in the experiment group was (0.391 ± 0.014) after 1 week, (0.447 ± 0.006) after 2, (0.417 ± 0.011) after 3 and (0.275 ± 0.007) after 4 weeks. The corresponding AIODs for Bax expression were (0.180 ± 0.015) , (0.155 ± 0.007) , (0.167 ± 0.003) and (0.251 ± 0.016) respectively. After 1w of daily radiation, no significant difference was found in the expressions of Bcl-2 and Bax protein between the experimental and the other 2 groups ($P > 0.05$). Three weeks after the radiation, however, the expression of Bcl-2 protein in the experimental group was significantly higher than the control groups ($P < 0.001$), with that of Bax being significantly lower ($P < 0.001$). However, the expres-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.012.004

作者单位: 314000 嘉兴, 嘉兴市第二医院康复医学中心 (王中莉、顾旭东、姚云海、王晶、傅建明); 中国医科大学附属第一医院康复科 (王中莉、林阳阳); 中国医科大学附属第二医院康复中心 (苑秀华)

通信作者: 苑秀华, Email: yuanxh_6123@sina.com

sions of Bcl-2 protein was significantly down-regulated and the expression of Bax protein was significantly up-regulated 6w later compared with those after 3w of exposure in the experiment group ($P < 0.001$). After 9w, in the experimental group, the expressions of Bcl-2 protein was obviously down-regulated and significantly lower than the control group. Moreover, the expression of Bax protein increased significantly compared to the control group ($P < 0.01$). And there was no significant difference between the control and normal group ($P > 0.05$) in the expression of Bcl-2 and Bax. **Conclusions** Low doses of ultra-shortwave radiation may protect LECs against apoptosis for a few days, but they may cause damage with repeated exposure.

【Key words】 Ultrashort waves; Crystalline lens; Epithelial cells; Apoptosis; Bax; Bcl-2

超短波疗法是通过热效应和非热效应作用于人体产生各种生理反应从而达到治疗疾病的目的^[1,2],其中超短波非热效应广泛应用于临床治疗眼部疾病。张斌等^[3]采用超短波无热量治疗 126 例麦粒肿患者总治疗有效率达 98%,取得良好治疗效果。而电磁辐射微波热效应可导致白内障已被人们所共识,近年来有学者已证实,非热效应的电离辐射也可引起晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LEC)的损害,存在导致白内障的风险^[4]。超短波和微波同属电磁辐射,是否在治疗剂量时也易使晶状体混浊发生白内障,是医疗工作者关心的问题。本研究通过小剂量超短波不同时间照射大鼠双眼,观察超短波对 LEC 凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 表达的影响,旨在探讨小剂量超短波对晶状体辐射损伤的作用机制。

材料与方法

一、实验动物及分组

健康 4 周龄 Wistar 大鼠 36 只(72 只眼)(中国医科大学实验动物部提供),体重(200 ± 20)g,雌雄不拘,适应性喂养 1 周;用裂隙灯显微镜检查晶状体透明,检查双眼屈光间质清,瞳孔等大正圆,对光反射灵敏,眼底无异常。按随机数字表法选取 4 只大鼠(8 只眼)作为正常对照(正常组),余 32 只大鼠分为实验组和对照组,每组 16 只大鼠(32 只眼),再按实验第 1、3、6 和 9 周四个观察时间点分为 4 个亚组,每组 4 只大鼠(8 只眼)。

二、超短波照射方法

实验组采用上海医用设备厂五官超短波治疗机做超短波照射,频率为 40.68 MHz,最大输出功率为 40 W,调谐后输出功率约为 14.24 W,输出功率测定采用光度学测定法。直径为 4 cm 圆形电极,空气间隙 3 cm,两电极对置,大鼠整个头部位于两电极之间(两电极通过可调节金属杆垂直置于治疗台上可达到稳定的作用,能够实现照射的均匀性及电极间距离一致),每日 1 次,每次 7 min。对照组照射时不开机,无超短波输出。

实验组各亚组接受超短波照射,并分别于照射第 1、3、6 和 9 周时处死,对照组各亚组亦同步处死。正

常组常规饲养不接受任何照射,实验开始后 9 周末处死(以尽量排除老化引起晶状体变化)。

三、实验方法及观察指标

1. 晶状体标本制作:实验组和对照组大鼠分别依不同的照射时间处死后,以眼科镊摘出眼球,在手术显微镜下后入路从鼠眼球中取出晶状体,去除悬韧带及玻璃体。放入 4% 多聚甲醛固定 48 h,石蜡定向包埋,矢状面 5~7 μm 连续切片。正常组实验开始后 9 周末处死大鼠后行晶状体标本制作,方法同上。

2. 免疫组化链霉亲和素-生物素复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)法染色:①切片脱蜡;②3% 过氧化氢孵育 10 min(室温 20~25 $^{\circ}\text{C}$);③切片放入 0.01 M 枸橼酸缓冲液中,微波修复抗原 10 min(95 $^{\circ}\text{C}$);④正常山羊血清,室温孵育 20 min;⑤滴加稀释的一抗(1:200),Bcl-2 和 Bax 蛋白(武汉博士德公司),于 4 $^{\circ}\text{C}$ 中过夜;⑥生物素标记的山羊抗小鼠 IgG,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 中孵育 1 h;⑦卵白素-生物素,即亲和素-生物素-酶复合物(Avidin-Biotin-Enzyme Complex, ABC)(武汉博士德公司),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h;⑧二氨基联苯氨(Diaminobenzidine, DAB)(武汉博士德公司)显色后,用蒸馏水停止反应。⑨苏木精复染。⑩梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。阴性对照:磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline PBS)代替一抗,余步骤同上。

3. 观察指标:采用计算机图文分析系统对免疫组化结果进行分析,于 400 倍高倍镜视野下随机选取 5 个视野,观察各组基因 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的形态学变化,同时采用 MetaMorph/DP10/BX41 图像分析系统(美国 SPOT-FLEX, OLYMPUS-BX60,中国医科大学设备科提供)检测 Bcl-2 和 Bax 蛋白阳性平均积分光密度(average integral optical density, AIOD)值,其数值越大,表示蛋白表达越强。

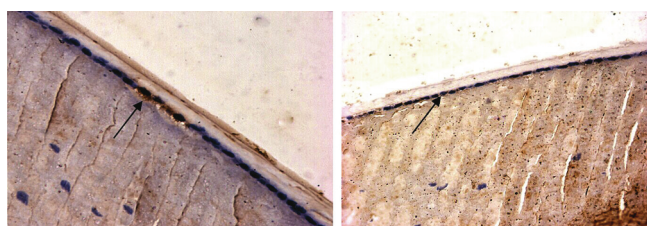
四、统计学方法

使用 SPSS 13.0 版统计软件对数据进行统计学分析处理,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,完全随机设计的单因素 ANOVA 多个样本均数间的两两比较,当方差齐时采用 LSD 检验,方差不齐时 Games-Howell 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、各组基因 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的形态学变化

LEC 的免疫组化学染色显示, Bcl-2、Bax 单克隆抗体均表现出各自特异的胞浆定位, 阳性细胞胞浆见特异性棕黄色或咖啡色颗粒状着色, 颗粒在胞浆中呈弥漫或散在分布。在正常 Wistar 大鼠 LEC 中, Bcl-2 和 Bax 均有表达(图 1)。对照组各亚组与正常组比较, Bcl-2 及 Bax 的表达未见明显变化。



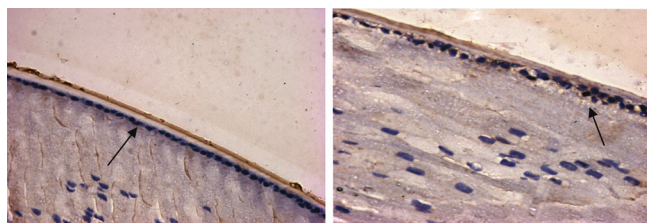
Bcl-2 蛋白表达

Bax 蛋白表达

注: 图中箭头所示为阳性表达细胞

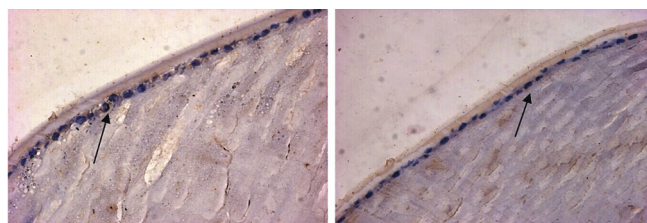
图 1 正常组大鼠晶状体上皮细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达 (SABC 染色, $\times 400$)

照射 1 周后, 实验组的 Bcl-2 蛋白表达与正常组对照组相仿; 照射 3 周后的 Bcl-2 蛋白表达显著增加; 照射 6 周后的 Bcl-2 较照射 3 周后的有所下调, 但比对照组表达高; 到照射 9 周后的 Bcl-2 明显下降(图 2), 且远低于对照组及正常组。



照射 1 周

照射 3 周



照射 6 周

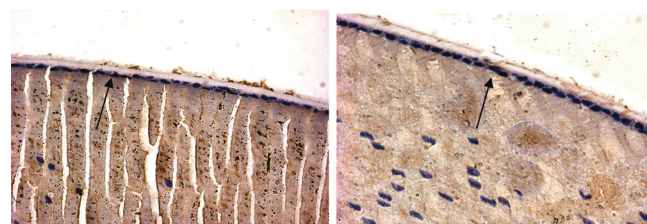
照射 9 周

注: 图中箭头所示为阳性表达细胞

图 2 实验组大鼠各照射时间点晶状体上皮细胞 Bcl-2 蛋白表达 (SABC 染色, $\times 400$)

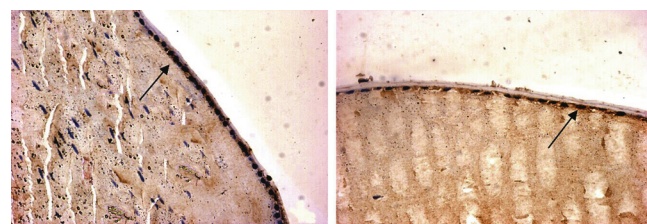
照射 1 周后实验组大鼠的 Bax 蛋白表达亦与正常组及对照组相仿; 照射 3 周后的 Bax 蛋白表达显著减少; 照射 6 周后的 Bax 表达较照射 3 周后的有所上调; 到照射 9 周后的 Bax 明显增加(图 3), 且远高于对照

组及正常组。



照射 1 周

照射 3 周



照射 6 周

照射 9 周

注: 图中箭头所示为阳性表达细胞

图 3 实验组大鼠各照射时间点晶状体上皮细胞 Bax 蛋白表达 (SABC 染色, $\times 400$)

二、各组基因 Bcl-2 和 Bax 蛋白阳性表达的 AIOD 值比较

正常组大鼠 LEC 凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 蛋白阳性表达的 AIOD 值分别为 (0.390 ± 0.162) 、 (0.180 ± 0.007) , 该组数值作为正常参照组。

1. Bcl-2 蛋白阳性表达的 AIOD 值: 实验组大鼠在照射疗程 3、6 和 9 周时, 分别与同时间点对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 实验组各个组间(照射疗程 1 周、3 周、6 周、9 周)比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 对照组与正常组比较、对照组各个时间点组间比较以及照射疗程 1 周实验组与同时间对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。方差分析: $F = 622.624$ 。详见表 1。

表 1 各组大鼠 LEC 的 Bcl-2 蛋白表达的 AIOD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	晶状体个数	观察时间点			
			第 1 周	第 3 周	第 6 周	第 9 周
正常组	4	8	—	—	—	0.390 ± 0.016
实验组	4	8	0.391 ± 0.014^a	0.447 ± 0.006^{bc}	0.417 ± 0.011^{bcd}	0.275 ± 0.007^{bcde}
对照组	4	8	0.390 ± 0.014^a	0.394 ± 0.011^a	0.397 ± 0.011^a	0.392 ± 0.012^a

注: 与正常组比较, $^a P > 0.05$; 与对照组同时点比较, $^b P < 0.01$; 与组内第 1 周比较, $^c P < 0.01$; 与组内第 3 周比较, $^d P < 0.01$; 与组内第 6 周比较, $^e P < 0.01$

2. Bax 蛋白阳性表达的 AIOD 值: 实验组大鼠在照射疗程 3、6 和 9 周时, 分别与同时间点对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 实验组各个组间(照射疗程 1 周、3 周、6 周、9 周)比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 对照组与正常组比较、对照组各个时间点

组间比较以及照射疗程 1 周实验组与同时间对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。方差分析: $F = 180.983$ 。详见表 2。

表 2 各组大鼠 LEC 的 Bax 蛋白表达的 AIOD 值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	晶状体 个数	观察时间点			
			第 1 周	第 3 周	第 6 周	第 9 周
正常组	4	8	—	—	—	0.180 ± 0.007
实验组	4	8	0.180 ± 0.015 ^a	0.155 ± 0.007 ^{bc}	0.167 ± 0.003 ^{bcd}	0.251 ± 0.016 ^{bcd}
对照组	4	8	0.181 ± 0.015 ^a	0.181 ± 0.015 ^a	0.181 ± 0.016 ^a	0.179 ± 0.012 ^a

注:与正常组比较,^a $P > 0.05$;与对照组同时时间点比较,^b $P < 0.01$;与组内第 1 周比较,^c $P < 0.01$;与组内第 3 周比较,^d $P < 0.01$;与组内第 6 周比较,^e $P < 0.01$

讨 论

超短波与微波同属高频电磁波,1952 年 Hirsch 等^[5]首次报道雷达发射的微波引起工作人员双眼白内障,揭开了研究微波对眼辐射损伤的序幕。医疗上常用的超短波波带有 2 种:一种波长 7.37 m,频率 40.68 MHz;另一种波长 6 m,频率 50 MHz,同属于高频电磁辐射范畴。近年来有学者已证实^[6-7],低强度微波的非热效应也可引起晶状体上皮细胞的损害,存在导致白内障的风险。无热量超短波治疗眼科疾病广泛用于临床,但目前国内外对无热量超短波是否会引起晶状体混浊从而发生白内障的研究罕见,因此本研究采用大鼠模型进行超短波照射治疗,分别选取照射治疗不同疗程 1、3、6 和 9 周作为观察时间点,观察无热量超短波不同照射疗程对晶状体上皮细胞凋亡基因相关 Bcl-2 和 Bax 蛋白变化的影响,探讨其可能导致白内障的风险。

LEC 是晶体内代谢最活跃的部位,该细胞呈单层排列,为晶状体的生长、分化和损伤修复等提供物质基础和代谢能量,在保护整个晶状体的透明性和内环境稳定上起着重要的作用。一旦由于某些因素,如辐射损伤、氧化刺激、化学刺激等损害了 LEC 的正常结构和细胞间的紧密连接,晶状体的正常生理功能将受到破坏,致使水分潴留于晶状体内,晶状体纤维排列紊乱,从而晶状体出现混浊导致白内障^[8-9]。本研究直接取大鼠晶状体石蜡包埋后行免疫组化染色,观察 LEC 的变化,避免 LEC 通过体外培养影响研究结果的准确性及可靠性,此方法与国内外学者意见统一^[10-11]。

Li 等^[12]1995 年首先研究 LEC 凋亡与白内障的关系,发现晶状体混浊前晶体上皮细胞均发生凋亡。目前认为,LEC 凋亡是除先天性白内障以外的所有类型白内障形成的细胞学基础。

凋亡相关基因 Bcl-2/Bax 是调节凋亡的重要基

因,Bcl-2 可以与 Bax 等结合形成异构二聚体抑制细胞凋亡,Bcl-2 是细胞凋亡的抑制基因,其表达蛋白可延长细胞的存活时间;Bax 表达水平增高可拮抗 Bcl-2 的作用,并促进细胞凋亡^[13-14]。Reed 等^[15]研究报道,细胞内 Bcl-2/Bax 的比率是调节凋亡的关键,当 Bcl-2 表达下调和 Bax 表达上调,细胞就发生凋亡,反之则减弱凋亡。本研究显示,实验组在照射 1 周后的 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达与对照组同时时间点比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明小剂量的超短波照射 1 周对 LEC 无明显影响;实验组在照射 3 周后与对照组同时时间点比较,Bcl-2 蛋白表达增加显著,同时 Bax 明显减少。王传杰等^[16]研究表明,超短波治疗视神经损伤大鼠后,可以使神经节细胞上的 Bcl-2/Bax 比率上调,说明超短波对凋亡有一定的保护作用。然而本研究实验组在照射 6 周后的 Bcl-2 表达较照射 3 周后的表达有所下调,但仍比正常组及对照组表达高,而且 Bax 也出现相应的变化,到照射 9 周后 Bcl-2 则明显下降,远低于对照组,Bax 表达也明显增加,Bcl-2/Bax 比率显著下调,且差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示大鼠双眼接受小剂量超短波辐射 6 周内是相对安全的疗程,尤其是超短波照射 3 周后对大鼠 LEC 有一定的保护作用,而照射 9 周后有可能引起 LEC 发生凋亡,造成 LEC 的损伤。因此,临床超短波治疗顽固性眼科疾病还需慎重,应避免长疗程治疗而产生晶状体损伤,给患者带来健康隐患。

综上所述,本研究为超短波临床治疗眼部疾病安全疗程提供了一定的理论依据,但 LEC 的凋亡并非单一因素决定,人和大鼠的生理结构及接受辐射的调节能力存在差异,而且照射一定疗程后适当间歇是否可使 LEC 自我修复从而避免损伤,还有待于更多的研究和探讨。

参 考 文 献

- [1] Lee PB, Kim YC, Lim YJ, et al. Efficacy of pulsed electromagnetic therapy for chronic lower back pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. J Int Med Res, 2006, 34(2):160-167.
- [2] Laufer Y, Zilberman R, Porat R, et al. Effect of pulsed short-wave diathermy on pain and function of subjects with osteoarthritis of the knee: a placebo-controlled double-blind clinical trial[J]. Clin Rehabil, 2005, 19(3):255-263.
- [3] 张斌,李志君,朱宁. 超短波治疗麦粒肿的临床疗效观察[J]. 医药与保健, 2010, 18(2):13.
- [4] Bormusov E, P Andley U, Sharon N, et al. Non-thermal electromagnetic radiation damage to lens epithelium[J]. Open Ophthalmol J, 2008, 2:102-106.
- [5] Hirsch FG, Parker JT. Bilateral lenticular opacities occurring in a technician operating a microwave generator[J]. AMA Arch Ind Hyg Occup Med, 1952, 6(6):512-517.

- [6] Ye J, Yao K, Wu R. Ultrastructural change of rabbit lens epithelial cells induced by low power level microwave radiation[J]. Chin J Ophthalmol, 2001, 37(1):56-58.
- [7] Li HW, Yao K, Jin HY, et al. Proteomic analysis of human lens epithelial cells exposed to microwaves[J]. Jpn J Ophthalmol, 2007, 51(6):412-416.
- [8] Andley UP, Malone JP, Townsend RR. Inhibition of lens photodamage by UV-absorbing contact lenses[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(11):8330-8341.
- [9] Babizhayev MA, Vishnyakova KS, Yegorov YE. Telomere-dependent senescent phenotype of lens epithelial cells as a biological marker of aging and cataractogenesis: the role of oxidative stress intensity and specific mechanism of phospholipid hydroperoxide toxicity in lens and aqueous[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2011, 25(2):139-162.
- [10] Parthasarathy G, Ma B, Zhang C, et al. Expression of β A3/A1-crySTALLIN in the developing and adult rat eye[J]. J Mol Histol, 2011, 42(1):59-69.
- [11] 覃冬, 康刚劲. 3-氨基苯甲酰胺影响糖尿病大鼠 LECNF- κ B 表达的免疫组化研究[J]. 重庆医学, 2011, 40(24):2438-2440.
- [12] Li WC, Kuszak JR, Dunn K, et al. Lens epithelial cell apoptosis appears to be a common cellular basis for non-congenital cataract development in humans and animals[J]. J Cell Biol, 1995, 130(1):169-181.
- [13] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak[J]. Cell Cycle, 2007, 6(24):3043-3047.
- [14] Placzek WJ, Wei J, Kitada S, et al. A survey of the anti-apoptotic Bcl-2 subfamily expression in cancer types provides a platform to predict the efficacy of Bcl-2 antagonists in cancer therapy[J]. Cell Death Dis, 2010, 1:e40.
- [15] Reed JC. Proapoptotic multidomain Bcl-2/Bax-family proteins: mechanisms, physiological roles, and therapeutic opportunities[J]. Cell death differ, 2006, 13(8):1378-1386.
- [16] 王传杰, 苑秀华. 超短波对大鼠视神经损伤后视网膜神经节细胞和 BCL-2/Bax 表达的影响[J]. 中国实用眼科杂志, 2009, 27(9):1051-1054.

(修回日期:2014-10-15)

(本文编辑:汪 玲)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

中华医学会杂志社对一稿两投问题处理的声明

为维护中华医学会系列杂志的声誉和广大读者的利益,现将中华医学会系列杂志对一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下:

1. 本声明中所涉及的文稿均指原始研究的报告或尽管 2 篇文稿在文字的表达和讨论的叙述上可能存在某些不同之处,但这些文稿的主要数据和图表是相同的。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿及在一种刊物发表过摘要或初步报道而将全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿,应向有关期刊编辑部做出说明。

2. 如 1 篇文稿已以全文方式在某刊物发表,除非文种不同,否则不可再将该文投寄给他刊。

3. 请作者所在单位在来稿介绍信中注明文稿有无一稿两投问题。

4. 凡来稿在接到编辑部回执后满 3 个月未接到退稿,则表明稿件仍在处理中,作者欲投他刊,应事先与该刊编辑部联系并申述理由。

5. 编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核实后再通知作者,同时立即进行退稿处理,在做出处理决定前请作者就此问题做出解释。期刊编辑部与作者双方意见发生分歧时,应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

6. 一稿两用一经证实,期刊编辑部将择期在杂志中刊出其作者姓名和单位及撤销该论文的通告;对该作者作为第一作者所撰写的一切文稿,中华医学会系列杂志 2 年内将拒绝其发表;并就此事件向作者所在单位和该领域的其他科技期刊进行通报。

中华医学会杂志社