

谷胱甘肽对顺铂致小鼠染色体畸变的保护作用

安郁宽¹ 徐 铭² 徐艳岩^{3*}

(¹滨州医学院基础学院, 烟台 264003; ²滨州医学院实验动物中心, 烟台264003; ³滨州医学院药学院, 烟台 264003)

摘要 为了研究谷胱甘肽(GSH)对顺铂(CDDP)所致染色体畸变的影响, 将昆明小鼠随机分为空白对照组、GSH组、CDDP组、GSH+CDDP组进行实验, GSH组按照1 200 mg/(kg·d)连续3天尾静脉注射GSH, 对照组注射等量生理盐水; CDDP组于第2天一次注射顺铂20 mg/kg。对小鼠尾静脉取血检测血常规, 处死小鼠, 取骨髓进行有核细胞计数、微核实验和染色体G显带, 双盲阅片并进行统计学分析。结果表明, 对照组细胞染色体数目与形态完好, 微核出现的机率极低。GSH组与空白对照组相比无显著差异($P>0.05$)。CDDP组、GSH+CDDP组出现了明显的骨髓抑制现象, 染色体畸变率及微核率显著增高, 与空白对照组比较均有显著性差异($P<0.01$)。GSH+CDDP组与CDDP组相比染色体畸变率明显下降($P<0.05$)。表明谷胱甘肽对顺铂所致的染色体损伤具有一定的保护作用。

关键词 谷胱甘肽; 顺铂; 小鼠; 染色体畸变

The Protective Effect of Glutathione on Chromosome Aberration of Mice Induced by Cisplatin

An Yukuan¹, Xu Ming², Xu Yanyan^{3*}

(¹College of Basic Sciences, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China; ²Experimental Animal Center, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China; ³College of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China)

Abstract To study the effect of glutathione (GSH) on chromosome aberration induced by cisplatin (CDDP), Kunming mice in the experiment were randomly divided into the control group, GSH group, CDDP group, and group of GSH+CDDP. The mice of GSH Group were injected with Glutathione by tail vein in accordance with 1 200 mg/(kg·d) in three days. The control group were injected with the same volume of normal saline. The CDDP group were injected once with Cisplatin of 20 mg/kg on the 2nd day. The blood sample was drawn by the tail vein of mice for routine blood test. Kill the mice and get the bone marrows for nucleated cell count, micronucleus test and chromosome G banding. Read the slides with double-blind method and carry out the statistical analysis. The results showed that, for the control group, the numbers and morphology of the chromosome were regular, and the micronucleus was seldom observed. The comparison between the GSH group and the control group showed no difference ($P>0.05$). For the mice of CDDP group and GSH+CDDP group, the bone marrow depression was distinctly, and the chromosome aberration rates and micronucleus rates were significantly increased, which were significantly different from the control group ($P<0.01$). The aberration rate in the GSH+CDDP group was significantly lower than that in the CDDP group ($P<0.05$). These findings suggest that the glutathione has a definite protective effect on the chromosome damage induced by cisplatin.

Key words glutathione; cisplatin; mice; chromosome aberration

收稿日期: 2013-05-07 接受日期: 2013-07-25

山东科技发展计划(政策引导类)(批准号: 2011YD18046)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0535-6913225, E-mail: bzmexyy@163.com

Received: May 7, 2013 Received: July 25, 2013

This work was supported by the Science and Technology Development Program of Shandong Province (Grant No.2011YD8046)

*Corresponding author. Tel: +86-535-6913225, E-mail: bzmexyy@163.com

网络出版时间: 2013-09-13 16:59

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130913.1659.002.html>

顺铂(cisplatin, CDDP)又名顺式二氨基二氯络铂,是第一代铂类药物,具有抗癌谱广、作用强、与多种抗肿瘤药有协同作用、且无交叉耐药等特点,广泛应用于卵巢癌、睾丸癌、肺癌、膀胱癌、淋巴瘤、骨髓瘤和黑色素瘤等,为当前联合化疗中最常用的药物之一^[1]。不良反应主要有骨髓抑制、胃肠道反应、肾脏毒性、神经毒性等,临床防护和治疗主要有氨磷汀、白介素类(IL)和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)等^[2]。在细胞中,CDDP不仅与DNA结合,形成DNA链内和链间交联,而且引起DNA和染色体断裂,继而诱发各种染色体畸变^[3]。有研究表明,重组人促红细胞生成素、咖啡酸苯乙酯^[4-5]等可防止顺铂诱导大鼠骨髓细胞染色体畸变,而亚硒酸钠对CDDP诱发染色体畸变无任何干预作用甚至有增强毒性的效应^[3]。目前,针对化疗药物遗传毒性预防和治疗的药物品种很少,临床上对于高效低毒的化疗保护剂需要十分迫切。还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)是生物体内最重要的抗氧化剂,它能激活多种酶,从而影响细胞的代谢过程;还可通过巯基与体内的自由基结合,转化成容易代谢的酸类物质从而加速自由基的排泄,有助于减轻化疗、放疗的毒副作用^[6-7],而且GSH能够减轻CDDP引起的肾毒性^[8],不降低CDDP抑制肺癌细胞生长的影响,不影响CDDP诱导的细胞凋亡^[9],但无毒性剂量的GSH对CDDP致染色体损伤或畸变的作用有何影响尚不清楚。本研究采用GSH联合CDDP作用于小鼠,目的在于观察CDDP诱发染色体畸变及抗氧化剂GSH的影响,探讨GSH有无防护染色体畸变作用的同时,是否会缓解机体内骨髓抑制和血常规改变,从而探讨谷胱甘肽对顺铂诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变的保护作用,为临床上应用谷胱甘肽减轻顺铂的遗传毒性提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及器材

CDDP(南京制药厂,批号20110203);GSH(山东绿叶制药有限公司,批号201202263);秋水仙素(Colchicine,国药集团化学试剂有限公司,批号20120711);双目显微镜(XSP-BM-12C,上海彼爱姆光学仪器制造公司),恒温水浴锅(HW.SY,龙口市先科仪器公司);离心机(TGL-16G,上海安亭科学仪器厂);数字显微图像处理系统软件MiEV2.0;BC-2300

准全自动三分群血液分析仪(迈瑞公司)及配套试剂。

1.2 动物

健康昆明种小鼠,雄性,体重22~28 g,由滨州医学院实验动物中心提供。普通饲养,自由饮水。

1.3 实验动物分组方法与给药

健康昆明种雄性小鼠20只,随机分为4组:空白对照组、GSH组(1 200 mg/kg, i.v.)、CDDP组(20 mg/kg, i.v.)和GSH+CDDP组,对照组注射等体积的生理盐水。用药间隔24 h,在末次给药24 h后全部小鼠脱颈椎处死,遵从实验动物福利、伦理原则。处死动物前4 h按4 mg/kg腹腔注射0.1%秋水仙素。GSH组和CDDP组用药剂量根据临床剂量换算^[10]和前期研究,实验动物按组别分笼饲养,自由进食和饮水。

1.4 小鼠血常规检测

小鼠空腹时于尾端约0.5 cm处割尾静脉采血20 μ L,然后准全自动三分群血液细胞分析仪进行测定,测定血常规各项指标。按照仪器说明书操作,使用配套试剂。

1.5 骨髓有核细胞(BMC)直接定量计数法

取小鼠骨髓液0.5 mL,立即注入事先准备好的内含20 μ L肝素钠溶液EP管内,充分混匀,抗凝骨髓液20 μ L与0.38 mL稀释液(0.1 mol/L盐酸溶液)混匀于小试管内,混匀待红细胞溶解后,用微量加样器准确吸取混匀后的抗凝骨髓液20 μ L,注入计数板计数。骨髓有核细胞数=每个大方格内细胞平均数 $\times 10^4 \times$ 稀释倍数^[11]。

1.6 小鼠骨髓细胞染色体畸变实验

颈椎脱臼法处死小鼠,取股骨,用生理盐水冲洗骨髓腔获取骨髓细胞,0.075 mol/L KCl、37 $^{\circ}$ C水浴低渗处理30 min,加1 mL新配制的固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)进行预固定,吹打均匀,离心(1500 r/min, 10 min),弃上清,加新配固定液,进行再固定;离心弃上清,加少许固定液制成细胞悬液。在冷载玻片上滴2~3滴细胞悬液,吹散,酒精灯上烤干(部分制片老化3天后,胰酶处理),Giemsa扣染15 min,自来水冲洗,晾干,标本全部统一编号,双盲法阅片。油镜下观察染色体分散良好的中期细胞,记录所出现的染色体畸变细胞数,并计算畸变率(%)。

1.7 小鼠骨髓细胞微核实验

颈椎脱臼处死各组小鼠。取股骨,放于生理盐水中剪碎,过滤获得滤液。1 000 r/min离心5 min,弃上清,固定之后制备细胞悬液,滴片,扣染法Gimesa

染液进行染色,蒸馏水冲洗后,自然干燥。显微镜观察,双盲法阅片。观察计数各组小鼠产生微核的骨髓嗜多染红细胞(PCE)数,每鼠计数1 000个PCE,记录含微核的PCE细胞数,微核率以千分率表示。

1.8 统计学分析

使用SPSS 13.0统计软件进行数据分析,各组数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析和组间 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠血常规检测分析

与对照组相比,CDDP组小鼠血液中各项血常规数值有所下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与CDDP组比较,GSH+CDDP组的白细胞和血小板数目明显上升,差异具有统计学意义($P < 0.01$)(表1)。

2.2 骨髓有核细胞数测定结果

与对照组比较,CDDP组的骨髓有核细胞数明显降低,差异有极显著性($P < 0.01$);GSH+CDDP组与CDDP组比较骨髓有核细胞数有所上升,两组有显著差异($P < 0.05$)(图1)。

2.3 小鼠骨髓染色体畸变实验结果

空白对照组小鼠骨髓细胞染色体数目与形态完好,染色体为近端着丝粒染色体(图2),GSH组与对照组相比,差异无统计学意义(表2, $P > 0.05$),说明GSH本身不具有致畸性。CDDP组、CDDP+GSH组骨髓细胞染色体发生畸变,主要表现为染色体断裂、短棒状(图3),染色体畸变率与对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。CDDP+GSH组小鼠骨髓细胞染色体畸变率明显低于CDDP组,差异具有统计学意义(表2, $P < 0.05$)。

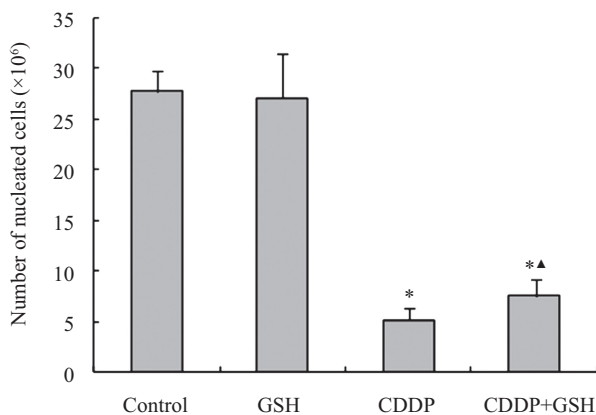
表1 小鼠血常规检测结果($n=6, \bar{x} \pm s$)

Table 1 The results of routine blood test of mice($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别 Groups	白细胞数目 WBC($\times 10^9/L$)	血红蛋白 HGB(g/L)	红细胞数目 RBC($\times 10^{12}/L$)	血小板数目 PLT($\times 10^9/L$)
Control	8.74±0.86	153.71±12.87	9.32±0.56	11.25±8.94
GSH	8.50±1.90	134.57±10.72	8.29±0.48	7.88±6.35
CDDP	3.58±0.99 [▲]	145.38±12.61	8.84±0.72	4.78±1.05 [▲]
GSH+CDDP	6.55±1.13*	152.17±21.14	9.02±0.70	12.71±12.52*

[▲] $P < 0.01$, 与对照组相比; * $P < 0.01$, 与CDDP组相比; WBC: 白细胞数目; HGB: 血红蛋白; RBC: 红细胞数目; PLT: 血小板数目。

[▲] $P < 0.01$, compared with the control group; * $P < 0.01$, compared with the CDDP group; WBC: number of white blood cells; HGB: hemoglobin; RBC: number of red blood cells; PLT: number of platelets.



* $P < 0.01$, 与对照组相比; [▲] $P < 0.05$, 与CDDP组相比。

* $P < 0.01$, compared with the control group; [▲] $P < 0.05$, compared with the CDDP group.

图1 各实验组小鼠骨髓有核细胞数变化

Fig.1 The difference in the number of nucleated cells of marrows among the mice groups

2.4 小鼠骨髓细胞微核检测实验结果

各实验组标本均可在光镜下观察到清晰的微核,对照组与GSH组微核出现的机率极低(图4),两组相比,没有明显差异,说明GSH本身不具有致突变性。而CDDP组光镜下可见较多的微核畸变(图5)。

CDDP组、GSH+CDDP组小鼠骨髓细胞微核畸变率与对照组相比,差异非常显著($P < 0.01$),说明CDDP对小鼠的染色体具有明显的诱变效应,GSH+CDDP组微核畸变率明显低于CDDP组,两组相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$),显示GSH对小鼠骨髓细胞微核畸变具有一定的保护作用(表3)。

3 讨论

目前,临床针对化疗药物毒副作用预防和治疗的药物品种很少,主要有氨磷汀、白介素类(IL)和粒

表2 小鼠骨髓细胞染色体畸变率 ($n=5, \bar{x} \pm s$)
Table 2 The chromosome aberration rate of bone marrow cells of mice($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	畸变细胞数	观察细胞数	染色体畸变率(%)
Groups	Number of aberrant cells	Number of observed cells	Chromosome aberration rates(%)
CDDP	21	142	14.81±0.182*
GSH	10	162	6.17±0.172 [#]
CDDP+GSH	18	151	11.87±0.081* ^Δ
Control	6	136	4.41±0.235

* $P<0.01$, [#] $P>0.05$, 与对照组相比; ^Δ $P<0.05$, 与CDDP组相比。
* $P<0.01$, [#] $P>0.05$, compared with control group; ^Δ $P<0.05$, compared with CDDP group.

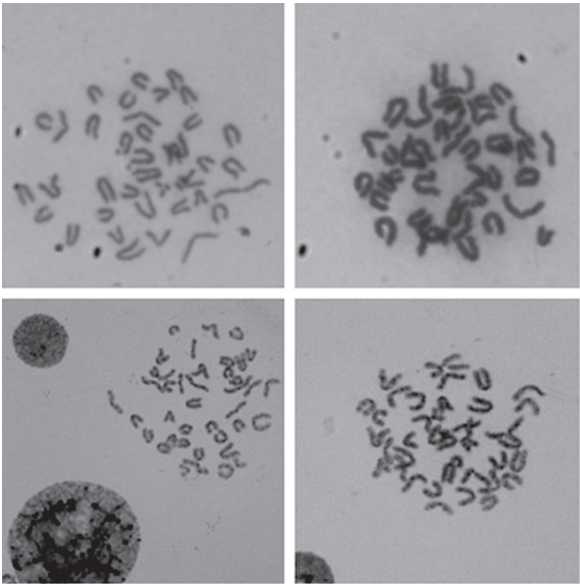
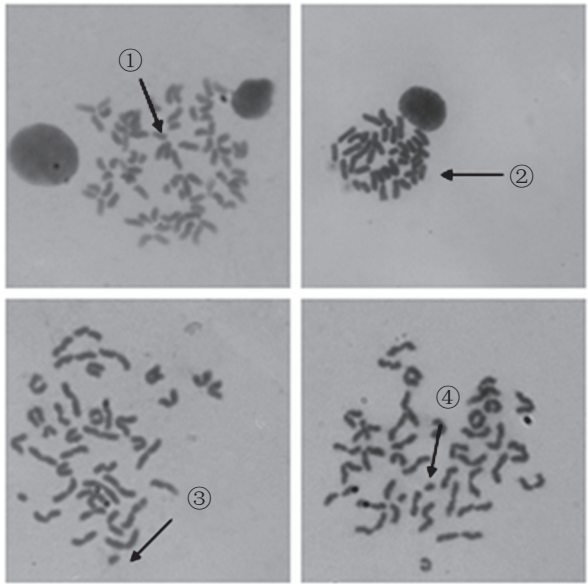


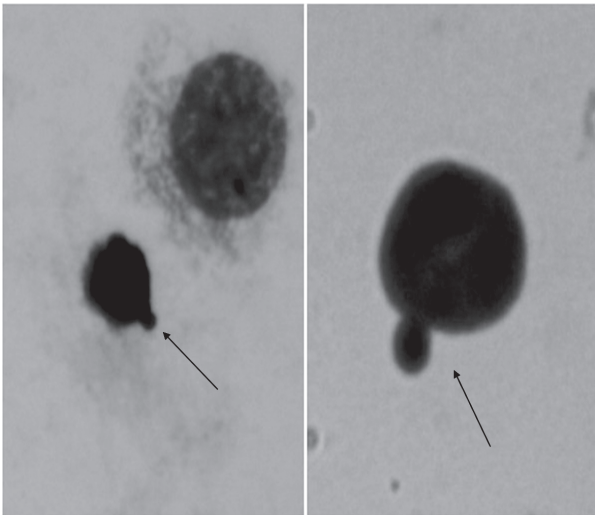
图2 对照组小鼠正常染色体及G显带(10×100)
Fig.2 The normal chromosome and G banding of the control group mice (10×100)



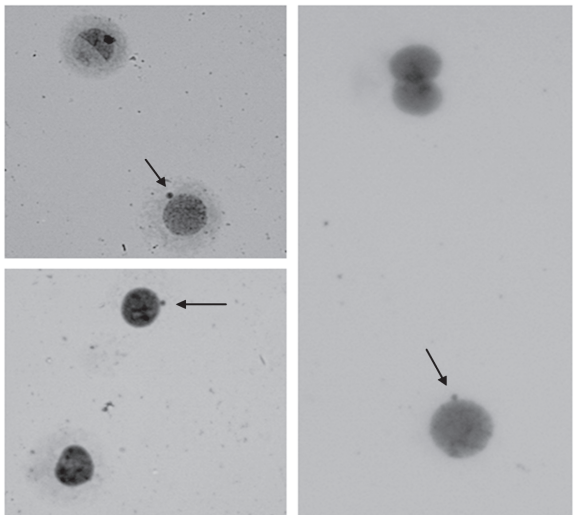
①、②为畸变的棒状染色体, ③、④为断裂的染色体。
① and ② are aberrant rod-like chromosomes, ③ and ④ are broken chromosomes.

图3 CDDP组畸变染色体(10×100)

Fig.3 The aberrant chromosomes of the CDDP group (10×100)



箭头所指为微核。
The arrows indicate the micronucleus.
图4 GSH组骨髓细胞玻片标本光镜下观察(10×100)
Fig.4 Marrow cells of GSH group under microscope (10×100)



箭头所指为微核。
The arrows indicate the micronucleus.
图5 CDDP组骨髓细胞玻片标本光镜下观察(10×40)
Fig.5 Marrow cells of CDDP group under microscope (10×40)

表3 小鼠骨髓细胞微核畸变率($n=5, \bar{x} \pm s$)Table 3 The micronucleus rates of bone marrow cells of mice ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别 Groups	含微核PCE数 Number of PCEs with micronucleus	PCE数 Number of PCEs	微核畸变率(‰) Micronucleus rates(‰)
CDDP	34	4 502	7.53±0.639*
GSH	12	4 728	2.54±0.105 [#]
CDDP+GSH	23	4 667	4.93±0.095* ^Δ
Control	9	4 500	2.01±0.907

* $P<0.01$, [#] $P>0.05$, 与对照组相比; ^Δ $P<0.05$, 与CDDP组相比。* $P<0.01$, [#] $P>0.05$, compared with control group; ^Δ $P<0.05$, compared with CDDP group.

细胞集落刺激因子(G-CSF)等。但重组人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)使用数次后药效迅速降低; 输注血小板维持时间短, 还可能出现输血反应、抗体产生等问题; IL-11易引发水肿和心律失常等不良反应。因此, 临床上对于高效低毒的化疗保护剂需要十分迫切^[12]。

众所周知, 顺铂是目前临床上应用较广泛的一种高效抗癌药物, 但在临床应用中的副作用明显。CDDP对肝、肾、神经的损伤机制主要是氧化损伤, 而对骨髓的损伤主要是骨髓抑制^[13-14], 与自由基损伤有关。在化疗过程中, CDDP的毒性导致细胞内产生大量的自由基, 自由基攻击骨髓中的血细胞前体, 导致其活性下降, 血液中的血细胞寿命变短, 血细胞前体快速增殖补充血细胞。CDDP主要是针对快速增殖的细胞, 可与细胞DNA链上的碱基结合, 干扰DNA复制和RNA转录, 从而抑制细胞分裂, 因而导致快速分裂的正常骨髓细胞增殖受到抑制, 加速细胞凋亡, 从而引起骨髓抑制^[15], 癌症患者也可继发急性骨髓性白血病。

GSH是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸结合而成的三肽, 是人体细胞内的重要代谢物质, 半胱氨酸上的巯基为其活性基团, 能够清除体内的超氧离子及其他自由基, 保护细胞膜的完整性, 维持细胞的正常代谢^[16]。化疗是治疗恶性肿瘤的重要手段, 但化疗药物通过干扰细胞代谢, 形成氧自由基损坏正常细胞, GSH能够激活多种酶, 通过巯基与体内的自由基结合, 转化成容易代谢的酸类物质加速自由基的排泄, 从而达到清除化疗过程中形成的氧自由基的目的, 或与化疗药物及其代谢产物形成低毒产物, 保护或恢复受损细胞或受损器官功能。研究表明, GSH作为抗氧化剂对化疗药物引起的机体损伤有一定的修复作用, 有助于减轻化疗的毒副作用, 能够减少CDDP诱导的肾损伤^[8]。在体外实验中, GSH不改

变CDDP对肿瘤细胞的生长抑制作用, 不影响CDDP诱导的细胞凋亡^[9], GSH与CDDP联合用药不降低CDDP对肝癌细胞的作用^[17]。

血常规检查是临床上最基础的化验检查之一。通过红细胞、白细胞、血红蛋白及血小板数量等的血象检测, 能够反应骨髓的造血功能。与对照组比较, CDDP组血常规测定值明显的下降, 说明CDDP对小鼠的骨髓造血功能产生了一定的影响($P<0.01$); 与CDDP组相比, GSH+CDDP组则数值有所上升, 表明GSH对小鼠的骨髓造血功能产生了一定的保护作用。提示GSH能对抗CDDP引起的白细胞数下降, 从而达到减毒增效作用。

骨髓有核细胞数量检查是骨髓造血功能重要检查项目之一, BMC的变化可反映骨髓造血功能的受损和恢复情况。本研究表明, CDDP组小鼠的BMC较正常组明显减少, 联合用药组小鼠BMC则表现出一定程度的恢复, 表明GSH对CDDP引起的骨髓受损具有一定的保护作用($P<0.05$)。

骨髓细胞染色体畸变试验是一项常规的遗传毒性试验方法。染色体畸变的检测能进一步说明药物在细胞遗传上的作用。本研究采用联合应用GSH和CDDP及单独应用CDDP来作用于小鼠, 结果显示, GSH+CDDP组与CDDP组相比骨髓细胞染色体畸变率明显下降, 通过对实验结果分析得出GSH对由CDDP引起的骨髓抑制现象有明显的修复作用($P<0.05$)。表明GSH对CDDP引起的骨髓细胞染色体畸变具有抑制作用, 为其应用于肿瘤的辅助治疗, 减少CDDP的毒副作用提供理论依据。

微核是细胞内染色体断裂或纺锤丝受影响而在细胞有丝分裂后期滞留在细胞核外的遗传物质。微核检测是染色体损伤的一个敏感指标, 能检测化学毒剂诱导产生的染色体完整性改变和染色体分离改变这两个遗传学终点, 是目前国际上公认的筛选

致突变物、致癌物的主要手段之一。本实验结果表明, GSH能明显抑制CDDP诱发的小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成, 对由CDDP引起的微核率的增高有显著的抑制作用($P<0.05$), 提示GSH在提高染色体DNA 稳定性上有一定的作用, 从而抑制染色体畸变, 对染色体的化学损伤有一定的保护作用。

综合以上实验结果, GSH对CDDP引起的骨髓抑制及染色体损伤有一定的保护作用, 可作为临床上应用CDDP进行肿瘤化疗时的辅助用药, 对于降低CDDP的遗传毒性具有重要的意义。然而, 全面评价GSH抑制CDDP的染色体损伤作用, 还需要在细胞学层面的作用机理进行进一步的深入研究, 以期临床用药提供更为科学的实验依据。

参考文献 (References)

- 1 林晓雯, 张艳华. 铂类抗肿瘤药的进展与临床评价. 中国医院用药评价与分析(Lin Xiaowen, Zhang Yanhua. Clinical evaluation on platinum anticancer drugs. Evaluation and Analysis of Drug-use in Hospitals of China) 2011; 11(1): 4-7.
- 2 王松芝, 陶奋道, 赵凤荣. 顺铂不良反应的防治. 中国医院药学杂志(Wang Songzhi, Tao Fendao, Zhao Fengrong. Chinese Journal of Hospital Pharmacy) 2004; 24(7): 446-7.
- 3 陈贤均, 赵红刚. 亚硒酸钠对顺铂诱发染色体畸变作用的影响. 卫生毒理学杂志(Chen Xianjun, Zhao Honggang. Journal of Toxicology) 2004; 18(2): 107-8.
- 4 Rjiba-Touati K, Ayed-Boussema I, Skhiri H, Belarbia A, Zellema D, Achour A, *et al.* Induction of DNA fragmentation, chromosome aberrations and micronuclei by cisplatin in rat bone-marrow cells: Protective effect of recombinant human erythropoietin. *Mutat Res* 2012; 747(2): 202-6.
- 5 Yilmaz HR, Uz E, Altunbasak A, Sakalli E, Özçelik N. Anticlastogenic effect of caffeic acid phenethyl ester on cisplatin-induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells. *Toxicol Ind Health* 2010; 26(1): 33-7.
- 6 黄平, 逯华, 陈日新, 罗展雄, 徐艺安. 谷胱甘肽防治奥沙利铂神经中毒性的临床观察. 中国肿瘤临床与康复(Huang Ping, Lu Hua, Chen Rixin, Luo Zhanxiong, Xu Yian. Efficacy of reduced glutathione in preventing and treating neurotoxicity of oxaliplatin. Chinese Journal of Clinical Oncology and Rehabilitation) 2007; 4(2): 151-3.
- 7 何念海, 顾长海, 马巧玉, 何亚玲. 还原型谷胱甘肽治疗病毒性肝炎的临床观察. 临床内科杂志(He Nianhai, Gu Changhai, Ma Qiaoyu, He Yaling. Journal of Clinical Internal Medicine) 1996; 13(6): 27.
- 8 Xu YY, Jiang N, Liu TS, Qu HQ, Wang T. Evaluation of the effect of glutathione on cisplatin antitumor activity and kidney injury at different administration times. *Mol Med Rep* 2012; 6(5): 1075-80.
- 9 Xu Y, Jiang N, Yu H. Effect of glutathione combined with cisplatin and oxaliplatin on the proliferation and apoptosis of lung carcinoma cell line. *Toxicol Mech Methods* 2010; 20(8): 487-92.
- 10 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 郑青山, 孙瑞元. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算. 中国临床药理学与治疗学(Huang Jihan, Huang Xiaohui, Chen Zhiyang, Zheng Qingshan, Sun Ruiyuan. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics) 2004; 9(9): 1069-72.
- 11 李早荣, 唐兴洲, 周巧慧, 王晓君, 成军, 孙长贵, 等. 骨髓有核细胞几种计数方法的比较. 中华检验医学杂志(Li Zaorong, Tang Xingzhou, Zhou Qiaohui, Wang Xiaojun, Cheng Jun, Sun Changgui, *et al.* Chinese Journal of Laboratory Medicine) 2004; 27(3): 160-1.
- 12 李胜前, 陈丁丁, 高利忠. 河鲀I型胶原蛋白提取物防治环磷酰胺、顺铂或阿糖胞苷诱发小鼠骨髓抑制的研究. 中国临床药理学与治疗学(Li Shengqian, Chen Dingding, Gao Lizhong. Pufferfish type I collagen extract prevented and cured myelosuppression induced by cyclophosphamide or diamminedichloroplatinum or cytosine arabinoside in mice. *Chin J Clin Pharmacol Ther*) 2008; 13(2): 201-7.
- 13 刘贤明, 王华庆, 李兰芳, 崔秀珍, 张万岭, 张会来, 等. 还原型谷胱甘肽预防大剂量顺铂化疗所致的肾毒性. 天津医科大学学报(Liu Xianming, Wang Huaqing, Li Lanfang, Cui Xiu zhen, Zhang Wanling, Zhang Huilai, *et al.* Efficacy and safety of high-dose cisplatin with glutathione protection in the treatment of malignant tumors. Journal of Tianjin Medical University) 2002; 8(2): 225-6.
- 14 胡俊斌, 刘新月, 陈燕, 张义成. 谷胱甘肽对化疗药物性肝损害的防治作用. 中国新药与临床杂志(Hu Junbin, Liu Xinyue, Chen Yan, Zhang Yicheng. Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies) 1998; 17(4): 231.
- 15 翁淑兰, 王桂芳, 刘士云, 李清钊, 钟亚莉, 郝玉兰. 谷胱甘肽对顺铂所致肾损伤的保护作用. 职业与健康(Weng Shulan, Wang Guifang, Liu Shiyun, Li Qingzhao, Zhong Yali, Hao Yulan. Protective effect of GSH on nephrotoxicity induced by Cisplatin. *Occupation and Health*) 2009; 25(4): 341-2.
- 16 郭随章. 谷胱甘肽的临床应用概况. 药事实践杂志(Guo Suizhang. The Journal of Pharmaceutical Practice) 2001; 19(4): 204-5.
- 17 徐艳岩, 安郁宽, 李波清, 李京敏. 谷胱甘肽与顺铂合用对肝癌细胞增殖及凋亡的影响. 中国老年学杂志(Xu Yanyan, An Yukuan, Li Boqing, Li Jingmin. Effect of glutathione combined with cisplatin on the proliferation and apoptosis of HepG2 cells. Chinese Journal of Gerontology) 2010; 30(4): 487-90.