

亚砷酸钠对大鼠骨髓间充质干细胞的过氧化损伤

吕海龙, 李思源, 慕晓玲, 姜玉峰

吕海龙, 石河子大学第一附属医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

李思源, 慕晓玲, 姜玉峰, 石河子大学医学院组织胚胎学教研室 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

吕海龙, 副主任医师, 主要从事肝胆外科的相关工作。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960338

兵团博士基金资助项目, No. 2011BB019

兵团重点领域科技攻关基金资助项目, No. 2011BA058

作者贡献分布: 本课题由吕海龙与姜玉峰共同设计; 研究过程由吕海龙完成; 本论文写作由姜玉峰、李思源及慕晓玲完成。

通讯作者: 姜玉峰, 副教授, 832008, 新疆维吾尔自治区石河子市北四路, 石河子大学医学院组织胚胎学教研室。

yufengjiang03@126.com

电话: 0993-2057152

收稿日期: 2013-01-29 修回日期: 2013-03-15

接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-18

NaAsO₂ induces cytotoxicity to rat bone marrow mesenchymal stem cells

Hai-Long Lv, Si-Yuan Li, Xiao-Ling Mu, Yu-Feng Jiang

Hai-Long Lv, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital, School of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Si-Yuan Li, Xiao-Ling Mu, Yu-Feng Jiang, Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960338; the Doctoral Foundation of Xinjiang Production and Construction Corps, No. 2011BB019; the Key Scientific and Technological Project of Xinjiang Production and Construction Corps, No. 2011BA058

Correspondence to: Yu-Feng Jiang, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Shihezi University, Beisi Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. yufengjiang03@126.com

Received: 2013-01-29 Revised: 2013-03-15

Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To investigate the toxic effect of NaAsO₂ on rat bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) and to explore the possible mechanism involved.

METHODS: Cultured rat bone MSCs were exposed to different concentrations of NaAsO₂ (10, 20, 30, 40 and 50 μmol/L) for 24 h. MTT assay was used to evaluate cell viability. The level of

reactive oxygen species (ROS) was detected by staining cells with DCFH-DA. The content of malondialdehyde (MDA) and activity of superoxide dismutase (SOD) in rat bone MSCs were also measured.

RESULTS: Treatment with NaAsO₂ significantly decreased cell viability, GSH content and SOD activity, increased ROS and MDA formation, and induced Caspase 3 activation in rat bone MSCs cells.

CONCLUSION: Our findings suggest that NaAsO₂-induced oxidative stress may cause MSC apoptosis via mitochondria-dependent signaling pathways.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: NaAsO₂; Mesenchymal stem cells; Oxidative stress

Lv HL, Li SY, Mu XL, Jiang YF. NaAsO₂ induces cytotoxicity to rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(17): 1649-1653
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1649.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1649>

摘要

目的: 探索亚砷酸钠(sodiumarsenite, NaAsO₂)对原代培养的大鼠骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的氧化应激作用。

方法: 采集4周龄SD大鼠骨髓, 体外培养获得大鼠骨髓MSCs, 取第3代大鼠骨髓MSCs, 将不同浓度NaAsO₂(10、20、30、40和50 μmol/L)作用于大鼠骨髓MSCs, 进行染毒, 染毒时间为24 h, 采用细胞毒性试验法观察NaAsO₂对大鼠MSCs的细胞毒性作用, 利用2',7'-二乙酰二氯荧光素(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA)检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平, 并测定细胞中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力, 同时测定细胞内还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)的含量, Caspase 3试剂盒检测Caspase 3

■背景资料

砷是一种公认的毒物, 砷所引起的氧化应激在多种细胞中已被证实, 骨髓间充质干细胞是存在于体内的正常细胞, 它具有多向分化的潜能。但是亚砷酸钠(sodiumarsenite, NaAsO₂)对骨髓间充质干细胞损伤的确切机制目前尚未阐明。

■同行评议者

吴江峰, 教授, 三峡大学医学院形态学部

■研究前沿

探究NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞的毒性和氧化应激作用,可能会成为砷毒性作用研究的新热点.

酶活性.

结果:不同浓度的NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs,用MTS法进行细胞毒性检测显示,当NaAsO₂浓度 $\geq 20 \mu\text{mol/L}$ 时,大鼠骨髓MSCs吸光度值分别为 1.98 ± 0.09 、 1.45 ± 0.12 、 1.26 ± 0.11 和 1.02 ± 0.15 ,与对照组比较明显降低($P < 0.01$);不同浓度NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs,DCF荧光强度分别为 1572 ± 124 、 1998 ± 97 、 2337 ± 210 、 2878 ± 154 和 3960 ± 135 ,与对照组相比均明显增高($P < 0.05$);不同浓度NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs,MDA分别为 $1.4 \text{ EU/mL} \pm 0.06 \text{ EU/mL}$ 、 $1.9 \text{ EU/mL} \pm 0.12 \text{ EU/mL}$ 、 $2.3 \text{ EU/mL} \pm 0.08 \text{ EU/mL}$ 、 $2.6 \text{ EU/mL} \pm 0.11 \text{ EU/mL}$ 和 $3.3 \text{ EU/mL} \pm 0.09 \text{ EU/mL}$,与对照组相比均明显增高($P < 0.05$);不同浓度NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs,SOD分别为 $29 \text{ EU/mL} \pm 0.19 \text{ EU/mL}$ 、 $22 \text{ EU/mL} \pm 0.12 \text{ EU/mL}$ 、 $17 \text{ EU/mL} \pm 0.06 \text{ EU/mL}$ 、 $12 \text{ EU/mL} \pm 0.11 \text{ EU/mL}$ 和 $10 \text{ EU/mL} \pm 0.06 \text{ EU/mL}$,与对照组相比均明显降低($P < 0.05$);当NaAsO₂浓度 $\geq 20 \mu\text{mol/L}$ 时,大鼠骨髓MSCs的GSH分别为 $75 \text{ EU/mL} \pm 0.11 \text{ EU/mL}$ 、 $71 \text{ EU/mL} \pm 0.8 \text{ EU/mL}$ 、 $62 \text{ EU/mL} \pm 0.12 \text{ EU/mL}$ 和 $54 \text{ EU/mL} \pm 0.9 \text{ EU/mL}$,与对照组相比均明显降低($P < 0.05$).

结论:NaAsO₂可以诱导大鼠骨髓MSCs氧化损伤增加,提示氧化应激可能是NaAsO₂致大鼠骨髓MSCs细胞毒作用机制之一.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词:亚砷酸钠;间充质干细胞;氧化损伤

核心提示:亚砷酸钠(sodiumarsenite)降低细胞活力,还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase)水平,增加细胞内活性氧(reactive oxygen species),GSH和丙二醛(malondialdehyde)含量.

吕海龙,李思源,慕晓玲,姜玉峰.亚砷酸钠对大鼠骨髓间充质干细胞的过氧化损伤.世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1649-1653
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1649.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i17.1649>

■相关报道

NaAsO₂对体外培养的神经元、肝细胞、肾脏细胞等细胞有细胞毒性作用,其作用机制可能通过产生氧化应激反应,但目前有关NaAsO₂对原代培养的骨髓间充质干细胞的作用,尚未阐明.

严重的地区之一.砷暴露所引起的健康损害不仅包括急、慢性砷中毒,还包括致癌、致畸和致突变作用^[2,3],砷已被国际肿瘤研究中心(International Agency for Research on Cancer, IARC)归类为第一类致癌物^[4].

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于体内的正常细胞,它具有多向分化的潜能,可以分化为成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞、肌细胞和神经细胞等^[5].有关砷的致癌作用机制,已经开展了一定的研究,但是砷暴露对干细胞损伤的确切机制目前并不明确,有关砷暴露对骨髓MSCs的实验研究也不多见.为了深入研究砷对体内正常干细胞毒性的作用,本研究采用体外培养的原代骨髓MSCs,探讨亚砷酸钠(sodiumarsenite, NaAsO₂)对大鼠骨髓MSCs细胞的毒性和氧化应激作用,为进一步阐明砷导致干细胞损伤作用机制提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 CO₂培养箱(日本三洋公司);低温离心机(日本Sigma公司);倒置相差显微镜(Olympus);全自动酶标仪(Bio-Tek);全波长分光光度计(Bio-Tek). NaAsO₂(美国Sigma公司);胰蛋白酶(美国Sigma公司);DMEM培养基和胎牛血清(美国Gibco公司);DCFH-DA(美国Sigma公司);Caspase 3酶活性试剂盒(碧云天公司);CellTiter 96 Aqueous Non-Radioactive cell proliferation Assay试剂盒(美国Promega公司);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)(南京建成生物工程研究所).

1.2 方法

1.2.1 大鼠骨髓MSCs的分离、扩增和纯化:4周龄SD大鼠引颈处死后置于750 mL/L乙醇浸泡约1 min,无菌条件下分离出大鼠的股骨和胫骨,用注射器冲出骨髓细胞后经4号针头吹打,制成单细胞悬液. 1000 r/min离心5 min,弃去上清.用加有10%胎牛血清的DMEM重悬细胞,接种于25 cm²的培养瓶,置37 °C, 5%CO₂培养箱中培养. 3 d后更换培养液,以后每3-4 d换液1次,7-10 d细胞生长融合.经0.25%胰酶消化,以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 密度传代培养^[6,7].最终获得排列呈旋涡状、贴壁生长的长梭形大鼠骨髓MSCs.取第3代大鼠细胞用于染毒实验,实验组分别加入新鲜配制的不同浓度的NaAsO₂,对照组加入正常培养液.

0 引言

砷是自然界存在的有毒类金属元素,广泛分布于岩石、土壤和水环境中^[1].砷主要经呼吸道和消化系途径进入机体,长期摄入会在体内蓄积,引起慢性砷中毒,新疆是地方性砷中毒危害较

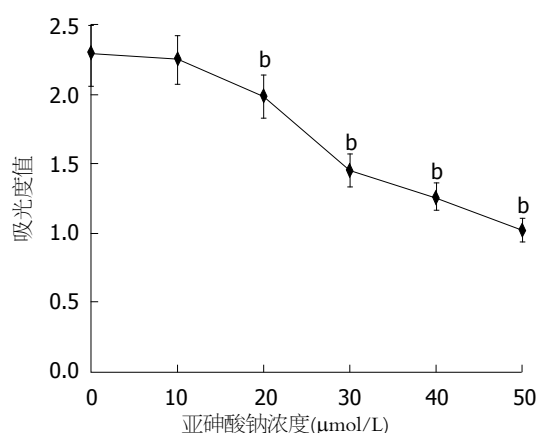


图1 不同浓度NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞的毒性作用。^b $P<0.01$ vs 对照组。

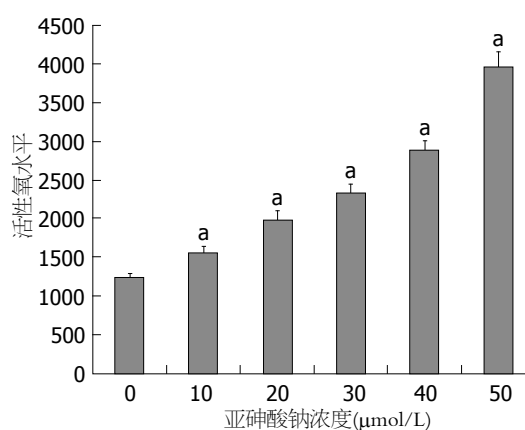


图2 NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞的活性氧活性的影响。^a $P<0.05$ vs 对照组。

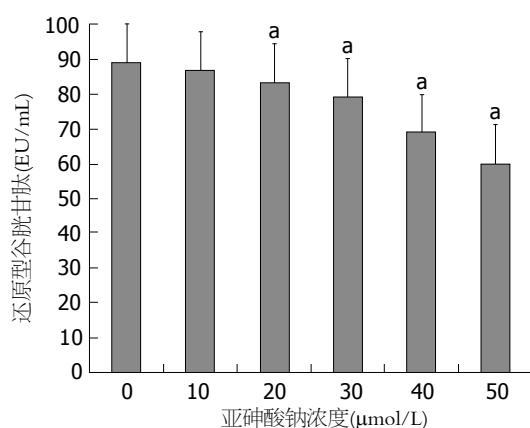


图3 NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞的还原型谷胱甘肽活性的影响。^a $P<0.05$ vs 对照组。

1.2.2 细胞毒性试验法: 将大鼠骨髓MSCs以每孔 1×10^5 /mL接种于96孔板, 待长至85%融合后, 吸出原培养液, 以不同浓度浓度的NaAsO₂(10、20、30、40和50 μmol/L)作用于大鼠骨髓MSCs, 37 °C, 5%CO₂培养24 h后, 每孔加20 mL MTS, 继续培养4 h, 于490 nm波长处测定光密度(A)值。A值的大小与活细胞数呈正比关系。

1.2.3 ROS的检测: 利用荧光探DCFH-DA检测细胞内ROS的形成。大鼠骨髓MSCs用各浓度的NaAsO₂作用24 h后, PBS洗2次, 加入含10 μmol/L DCFH-DA的DMEM培养液1 mL至各孔中, 37 °C孵育30 min, 用DMEM培养液洗去细胞外DCFH-DA, 使用全波长分光光度计测定细胞内DCF荧光强度(激发光485 nm, 发射光528 nm), 用BCA方法进行蛋白定量。

1.2.4 MDA、GSH含量和SOD活力的测定: 将大鼠骨髓MSCs以 1×10^5 /mL密度接种于培养皿中, 加入不同浓度浓度的NaAsO₂(10、20、30、40和50 μmol/L)处理24 h后收集细胞, 裂解, 12000 g离心

10 min, 取上清液。采用相关试剂盒测定MDA、GSH含量和SOD活力, 用BCA方法进行蛋白定量, 本实验重复3次。

1.2.5 Caspase 3酶活性检测: 以不同浓度的NaAsO₂(10、20、30、40和50 μmol/L)处理大鼠骨髓MSCs之后, 离心收集细胞, 加入裂解液, 冰上孵育, 缓冲液Ac-DEVD-pNA孵育, 用BCA方法进行蛋白定量。用酶标仪405 nm波长测量A值。

统计学处理 每组实验重复3次。数据均以mean±SD表示, 使用SPSS11.5统计软件进行显著性t检验和单因素方差(ANOVA)统计分析。

2 结果

2.1 细胞毒性试验 由图1可见, 用MTS法进行细胞毒性检测显示, 不同浓度的亚砷酸钠处理大鼠骨髓MSCs后, 与对照组比较, 各组间细胞活性存在明显差异。经t检验进行两两比较发现, 当浓度 ≥ 20 μmol/L时, NaAsO₂处理组的A值与对照组比较明显降低($P<0.01$), 说明接触染毒24 h后, 大鼠骨髓MSCs活性明显降低。提示一定浓度的NaAsO₂对大鼠骨髓MSCs具有明显的毒性作用。

2.2 NaAsO₂对ROS含量的影响 以DCFH-DA的转化产物二氯荧光素(2',7'-dichlorodihydrofluorescein, DCF)的平均荧光强度代表ROS含量, 各浓度NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs后DCF荧光强度与对照组相比均明显增高, 且呈剂量-反应趋势($P<0.05$, 图2)。

2.3 NaAsO₂对SOD活力、GSH和MDA含量的影响 与对照组比较, 各浓度亚砷酸钠染毒组, 大鼠骨髓MSCs细胞内MDA含量均显著升高, GSH和SOD活力均显著下降(图3-5), 差异有统计学

■创新盘点

采用贴壁分离方法, 获得高纯度的大鼠骨髓间充质干细胞。在此基础上, 进行了NaAsO₂毒性作用实验, 检测了氧化应激相关酶和Caspase 3酶活性水平。

■应用要点

可应用于砷对机体干细胞损伤及毒性作用机制的研究等方面。

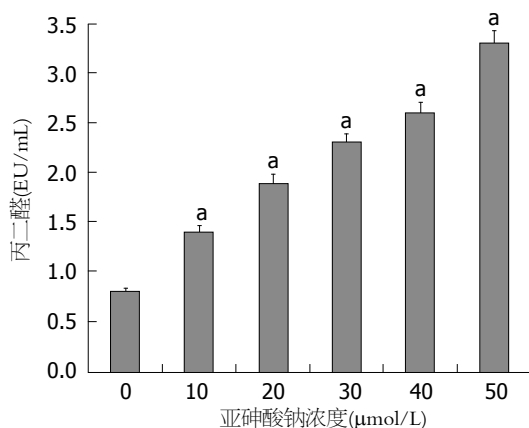


图4 NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞内丙二醛活性的影响。^a*P*<0.05 vs 对照组。

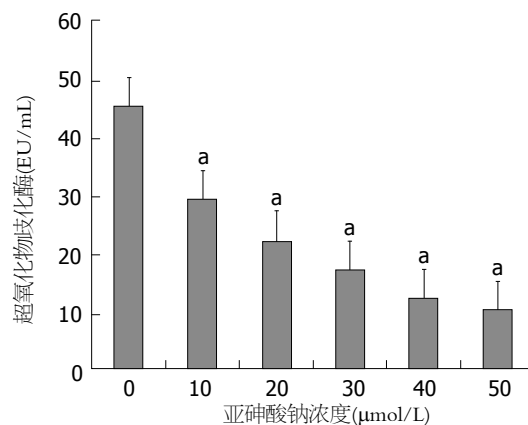


图5 NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞内超氧化物歧化酶活性的影响。^a*P*<0.05 vs 对照组。

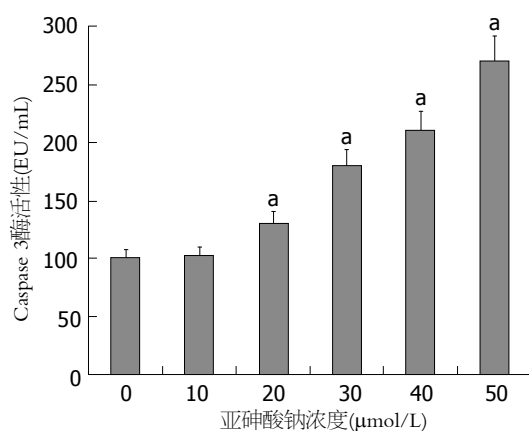


图6 NaAsO₂对大鼠骨髓间充质干细胞内Caspase 3酶活性的影响。^a*P*<0.05 vs 对照组。

意义(*P*<0.05),且随着亚砷酸钠染毒浓度的升高,大鼠骨髓MSCs细胞内MDA均呈明显的上升趋势,SOD活力和GSH含量呈明显的下降趋势,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。

2.4 Caspase 3酶活性 不同浓度NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs 24 h,各浓度均激活Caspase 3酶活性,50 μmol/L时细胞Caspase 3酶活性最高(*P*<0.05),进一步表明凋亡可能是NaAsO₂导致大鼠骨髓MSCs毒性作用的原因之一(图6)。结果如图所示,与对照组相比,NaAsO₂作用大鼠骨髓MSCs诱导其凋亡,且有明显剂量效应关系,这个结果说明NaAsO₂可以诱导大鼠骨髓MSCs细胞凋亡。

3 讨论

砷是一种公认的毒物,砷所引起的氧化应激已被不少研究所证实,亚砷酸盐可以提高细胞超氧阴离子自由基和羟自由基的生成,砷诱导人类上皮细胞ROS和活性氮族(reactive nitrogen species, RNS)的生成,氧化应激被认为是砷毒理

学作用特别是致癌作用的重要机制^[8,9]。本实验表明,NaAsO₂能明显的抑制大鼠骨髓MSCs的增殖,并且随着NaAsO₂浓度的升高,其抑制作用越显著,说明这种效应存在浓度依赖性。本实验也证实砷可以引起大鼠骨髓MSCs细胞内ROS和MDA含量均显著升高,GSH和SOD活力均显著下降。各浓度的NaAsO₂作用大鼠骨髓MSCs 24 h后,均引起了细胞的凋亡,并且诱导凋亡效应与NaAsO₂浓度也呈一定的依赖性。

ROS是细胞氧代谢的产物,他的产量增多可能引起机体氧化和抗氧化的失衡,从而影响细胞凋亡。DCFH-DA是一种非极性荧光染料,可以自由通过细胞膜,进入细胞后被细胞非特异性内酯酶去酯形成DCFH,DCFH本身不发荧光,但若被过氧化氢等氧化后即可形成发荧光的DCF,通过DCF荧光强度的变化可检测细胞内的ROS^[10]。本实验发现NaAsO₂可引起大鼠骨髓MSCs细胞ROS产生增多,结果显示NaAsO₂染毒浓度越大,细胞内ROS增加趋势越明显,砷的细胞毒性也就越大。究其原因,ROS可激活线粒体膜通透性孔道(permeability transition pore, PTP)开放,导致线粒体膜损伤,进而引起细胞色素c的释放,激活Caspase 3,诱导细胞凋亡。因此,本研究将不同浓度NaAsO₂作用于大鼠骨髓MSCs,研究证实,NaAsO₂诱导大鼠骨髓MSCs细胞激活Caspase 3,激活Caspase 3的激活与NaAsO₂的染毒浓度呈现剂量效应关系。

砷可以在体内和体外诱导氧化应激的产生,通过多种机制发生生理和病理反应。GSH是一种重要的抗氧化物,可以清除过量产生的自由基,砷进入体内后与含巯基的酶结合,SH在砷的甲基化过程中通过酶促和非酶促作用与砷形成砷-

硫复合物, 减少砷在体内的蓄积, 从而减轻砷的毒性. 因此GSH可作为机体防止砷中毒的第一道防线^[11,12]. 细胞MDA含量反映细胞脂质过氧化损伤程度, 而抗氧化酶SOD能清除细胞ROS, 避免细胞过度氧化应激. SOD是存在于线粒体内的抗氧化酶, 与ROS结合, 并将其转换为过氧化氢和氧, 在保护细胞免受氧化损伤中起关键作用^[13,14]. 在本研究中, 染毒组的SOD活力均下降, 这可能是由于在正常状态下, SOD是维持机体内ROS产生和清除动态平衡的重要抗氧化酶之一, 但当外源性化学物质(如砷化物)进入机体后, 其原形或中间活性产物均可破坏体内抗氧化系统的平衡, 使SOD活力降低. 可见, 过量的自由基一方面造成了过氧化物的增加, 另一方面又会造成SOD和GSH的耗竭^[15,16], 因此, 在MDA、GSH、SOD的改变方面表现了剂量-效应关系的一致性, 这与本试验研究结果相似.

总之, 本研究中NaAsO₂的暴露影响了大鼠骨髓MSCs细胞抗氧化系统的平衡, 使SOD活力下降, 进而导致由砷生成的ROS不能被及时清除, 使ROS水平持续升高, 可见氧化应激可能是NaAsO₂致大鼠骨髓MSCs细胞毒性作用的机制之一. 本研究从氧化应激角度探讨了砷所致大鼠骨髓MSCs细胞损伤的可能机制, 为进一步深入研究砷对机体干细胞毒性的机制提供了理论依据.

4 参考文献

- Bachate SP, Khapare RM, Kodam KM. Oxidation of arsenite by two β -proteobacteria isolated from soil. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 93: 2135-2145 [PMID: 21983709 DOI: 10.1007/s00253-011-3606-7]
- Chen B, Arnold LL, Cohen SM, Thomas DJ, Le XC. Mouse arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase genotype affects metabolism and tissue dosimetry of arsenicals after arsenite administration in drinking water. *Toxicol Sci* 2011; 124: 320-326 [PMID: 21934131 DOI: 10.1093/toxsci/kfr246]
- Chowdhury R, Dutta A, Chaudhuri SR, Sharma N, Giri AK, Chaudhuri K. In vitro and in vivo reduction of sodium arsenite induced toxicity by aqueous garlic extract. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 740-751 [PMID: 17983699 DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.108]
- Jeon BG, Kumar BM, Kang EJ, Maeng GH, Lee YM, Hah YS, Ock SA, Kwack DO, Park BW, Rho GJ. Differential cytotoxic effects of sodium meta-arsenite on human cancer cells, dental papilla stem cells and somatic cells correlate with telomeric properties and gene expression. *Anticancer Res* 2011; 31: 4315-4328 [PMID: 22199297]
- Saeed H, Taipaleenmäki H, Aldahmash AM, Abdallah BM, Kassem M. Mouse embryonic fibroblasts (MEF) exhibit a similar but not identical phenotype to bone marrow stromal stem cells (BMSC). *Stem Cell Rev* 2012; 8: 318-328 [PMID: 21927803 DOI: 10.1007/s12015-011-9315-x]
- Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, DiGirolamo C, Prockop DJ. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats--similarities to astrocyte grafts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3908-3913 [PMID: 9520466 DOI: 10.1073/pnas.95.7.3908]
- 王倩, 于娜, 姜玉峰. 大鼠骨髓基质细胞的培养及生物学特性鉴定. *现代生物医学进展* 2010; 10: 1473-1476
- Li B, Li X, Zhu B, Zhang X, Wang Y, Xu Y, Wang H, Hou Y, Zheng Q, Sun G. Sodium arsenite induced reactive oxygen species generation, nuclear factor (erythroid-2 related) factor 2 activation, heme oxygenase-1 expression, and glutathione elevation in Chang human hepatocytes. *Environ Toxicol* 2011 Aug 1. [Epub ahead of print] [PMID: 21809430 DOI: 10.1002/tox.20731]
- Lafferty BJ, Ginder-Vogel M, Sparks DL. Arsenite oxidation by a poorly-crystalline manganese oxide. 3. Arsenic and manganese desorption. *Environ Sci Technol* 2011; 45: 9218-9223 [PMID: 21950706 DOI: 10.1021/es201281u]
- Eblin KE, Hau AM, Jensen TJ, Futscher BW, Gandolfi AJ. The role of reactive oxygen species in arsenite and monomethylarsonous acid-induced signal transduction in human bladder cells: acute studies. *Toxicology* 2008; 250: 47-54 [PMID: 18588940 DOI: 10.1016/j.tox.2008.05.018]
- Kohsaka S, Takahashi K, Wang L, Tanino M, Kimura T, Nishihara H, Tanaka S. Inhibition of GSH synthesis potentiates temozolomide-induced bystander effect in glioblastoma. *Cancer Lett* 2013; 331: 68-75 [PMID: 23246370 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.12.005]
- Kisić B, Mirić D, Žorić L, Ilić A, Dragojević I. [Reduced glutathione level and GSH-dependent enzyme activities in corticonuclear blocks of lenses in patients with senile cataract]. *Srp Arh Celok Lek* 2012; 140: 563-570 [PMID: 23289270 DOI: 10.2298/SARH1210563K]
- Thomas R, Sharifi N. SOD mimetics: a novel class of androgen receptor inhibitors that suppresses castration-resistant growth of prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 87-97 [PMID: 22172488 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0540]
- Assady M, Farahnak A, Golestani A, Esharghian M. Superoxide Dismutase (SOD) Enzyme Activity Assay in Fasciola spp. Parasites and Liver Tissue Extract. *Iran J Parasitol* 2011; 6: 17-22 [PMID: 22347309]
- Lii CK, Lin AH, Lee SL, Chen HW, Wang TS. Oxidative modifications of proteins by sodium arsenite in human umbilical vein endothelial cells. *Environ Toxicol* 2011; 26: 459-471 [PMID: 20196163 DOI: 10.1002/tox.20572]
- Mittal M, Flora SJ. Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice. *Chem Biol Interact* 2006; 162: 128-139 [PMID: 16828073 DOI: 10.1016/j.cbi.2006.05.018]

同行评价

本文新颖性较好, 内容重要, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

