

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00354

富勒烯衍生物 C₃ 对小鼠辐射损伤的防护效应

崔建国, 程 赢, 高 福, 孙 顶, 周传丰, 姜 昊, 蔡建明, 李百龙*

第二军医大学海军医学系放射医学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的** 观察富勒烯衍生物 C₃ 对小鼠电离辐射的防护效果。**方法** 富勒烯 C₃ (100 mg/kg) 腹腔注射后, 利用 LD₅₀ 和 LD₉₀ 剂量⁶⁰Co γ 射线对 BALB/c 小鼠进行全身均匀照射, 观察小鼠照后 30 d 生存率、死亡动物平均存活时间、照后小鼠体内血清氧化指标[如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)]变化情况、照后 30 d 外周血白细胞计数情况, 以及照后小鼠外源性脾集落形成单位(CFU-S)和体外粒-单系细胞集落形成单位(CFU-GM)计数情况。**结果** 富勒烯衍生物 C₃ 可提高 γ 射线照后小鼠生存率($P < 0.01$), 但照后死亡动物平均存活时间无延长; C₃ 可提高照后小鼠体内血清 SOD 及 GSH 浓度($P < 0.01$), 减少照后血清 MDA 含量($P < 0.01$); C₃ 还可提高照后小鼠外周血白细胞计数水平($P < 0.01$), 并且提高照后小鼠外源性 CFU-S 和体外 CFU-GM 数量($P < 0.01$)。**结论** 水溶性富勒烯衍生物 C₃ 对小鼠 γ 射线辐射损伤具有较好的防护作用。

[关键词] 羧酸富勒烯 C₃; γ 射线; 自由基; 辐射防护

[中图分类号] R 818.05

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2011)04-0354-05

Protective effects of carboxyfullerene C₃ against γ -ray irradiation injury in mice

CUI Jian-guo, CHENG Ying, GAO Fu, SUN Ding, ZHOU Chuan-feng, JIANG Hao, CAI Jian-ming, LI Bai-long*

Department of Radiation Medicine, Faculty of Navy Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effects of carboxyfullerene C₃ against γ -ray irradiation-induced injury in BALB/c mice. **Methods** BALB/c mice were intraperitoneally injected with carboxyfullerene C₃ (100 mg/kg) 0.5 h before whole-body γ -ray irradiation at 6.0 Gy (LD₅₀) and 7.2 Gy (LD₉₀), with the dose rates being 1.0 Gy/min. The survival rate, average survival period of dead animals, and leukocyte count were observed 30 days after irradiation. The serum concentrations of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA) were examined by ELISA 4 h after γ -ray irradiation. The numbers of exogenous spleen colony-forming units (CFU-S) and *in vitro* colony-forming units of granulocyte and monocyte (CFU-GM) in mice receiving different regimens of γ -ray irradiation were calculated under microscope. **Results** Carboxyfullerene C₃ significantly increased the survival rate of mice on the 30th day after irradiation ($P < 0.01$), but it failed to prolong the average survival time of the dead animals after irradiation. Carboxyfullerene C₃ increased the serum levels of SOD and GSH ($P < 0.01$), and decreased serum MDA level ($P < 0.01$). Besides, carboxyfullerene C₃ also significantly increased the peripheral leukocyte count ($P < 0.01$), and promoted the CFU-S and CFU-GM counts ($P < 0.01$). **Conclusion** Water-soluble carboxyfullerene C₃ has satisfactory protective effect against γ -ray irradiation-induced injury in mice.

[Key words] carboxyfullerene C₃; gamma rays; free radicals; radiation protection

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(4): 354-358]

在辐射诱导的生物体损伤中, 羟自由基 ($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子 (O_2^-)、过氧化氢 (H_2O_2) 和亚硝酸阴离子 (ONOO^-) 等扮演了重要的角色。高能辐射作用于机体后, 除了可以直接将能量传递给生物分子导致损伤外 (直接作用), 还可以通过电离作用, 形成自由基, 由“自由基”作用于损伤靶点, 如 DNA、蛋白质等生物大分子, 进而产生损伤 (间接作

用)。清除自由基或削弱其产生的损伤作用对于减轻辐射损伤具有重要意义。

富勒烯 (fullerene), 又名 C₆₀、球烯, 由 Kroto 和 Smalley 等^[1]于 1985 年首次发现。由于分子结构和理化性质独特, 富勒烯及其衍生物在很多领域都显示了巨大的应用潜力^[2-7]。过去 10 年间的研究表明, 富勒烯及其衍生物可以有效地清除生物体内的

[收稿日期] 2011-04-06

[接受日期] 2011-04-11

[基金项目] 国家自然科学基金 (81072241, 81001221). Supported by National Natural Science Foundation of China (81072241, 81001221).

[作者简介] 崔建国, 博士, 讲师. E-mail: mustardcc@yahoo.com.cn

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81871149, E-mail: libailong2003@yahoo.com.cn

有害自由基,减轻自由基对机体的损伤^[8-14]。但是由于富勒烯水溶性很低,阻碍了其在生物学上的应用。目前主要的解决方法是通过化学修饰,如添加羟基、羧基、氨基及磺酸基等水溶性基团,来提高富勒烯的水溶性。富勒烯羧酸衍生物 C₃ 是 Lamparth 和 Hirsch^[15] 通过在富勒烯骨架上连接 6 个羧基合成的,是目前水溶性较高的富勒烯衍生物之一。Dugan 等^[11] 通过电子自旋共振技术证实富勒烯衍生物 C₃ 具有很强的清除羟自由基和超氧阴离子的能力。但目前世界上对富勒烯衍生物在辐射防护方面的研究较少,仅有的一些研究也主要探讨其对体外细胞模型的辐射防护作用。为此,本研究以小鼠作为研究对象,选取目前防护效果最好的 WR-2721(氨磷汀)作为阳性对照药物,观察了水溶性富勒烯衍生物 C₃ 对活体动物的辐射防护效果,初步探讨了 C₃ 辐射防护作用的机制,为新型辐射防护药物的研制提供理论和实验基础。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 富勒烯 C₆₀ (fullerene)、WR-2721(氨磷汀) 购自 Sigma-Aldrich 公司,富勒烯衍生物 C₃ 由本实验室合成^[16]。小鼠粒单系甲基纤维素培养基(MethoCult GF M3434) 购自 Stem-cell 公司。Bouin 固定液:饱和苦味酸溶液(1.22%) 75 ml、40% 甲醛 25 ml、冰醋酸 5 ml。多功能酶标仪(BioTek Synergy 2, 美国)。CASY 细胞计数仪(INNOVATIS 公司,德国)。

1.2 实验动物及分组 BALB/c 小鼠,雄性,SPF 级,4 周龄,体质量 18~20 g,购自第二军医大学实验动物中心[SCXK(沪)2007-0003]。动物分组:(1)方法 1,随机分为 4 组(正常对照组、生理盐水组、C₃ 组、WR-2721 组),每组 10~20 只;(2)方法 2,随机分为单纯给药组和照射组 2 大组,每大组再随机分为生理盐水组及 C₃ 组,共 4 组,每组 8 只;(3)方法 3,随机分为供体组和受体组 2 大组,每大组再随机分为正常对照组、生理盐水组、C₃ 组和 WR-2721 组 4 组,每组 15 只,共 120 只小鼠。

1.3 药物配制及给药方法 富勒烯 C₃ 及 WR-2721 使用前用生理盐水配制成溶液:富勒烯 C₃ 终浓度 10 mg/ml,WR-2721 终浓度 20 mg/ml。过滤消毒后避光保存备用。给药方法:γ 射线照前半小时腹腔注射给药,给药量 10 μl/g(相当于富勒烯 C₃ 100 mg/kg,WR-2721 200 mg/kg),生理盐水组给予等量生理盐水,正常对照组不给药。

1.4 辐照方法 ⁶⁰Co γ 射线全身均匀照射。LD₉₀ 剂量照射(剂量率 1.0 Gy/min,吸收剂量 7.2 Gy);

LD₅₀ 剂量照射(剂量率 1.0 Gy/min,吸收剂量 6.0 Gy);正常对照组不照射。

1.5 小鼠照后生存率及平均存活时间观察 小鼠按方法 1 进行分组,每组 20 只。腹腔给药半小时后给予 LD₉₀ 照射。照后连续观察小鼠 30 d 生存率及死亡动物平均存活时间,实验重复 3 次。

1.6 小鼠照后体内氧化指标测定 小鼠按方法 2 进行分组。腹腔分别给药后,照射组小鼠给予 LD₅₀ 照射。照后 4 h 颈椎脱臼法处死所有小鼠,心脏取血,按试剂盒说明书分别进行血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)检测。

1.7 小鼠照后脾脏及胸腺系数变化 小鼠按方法 1 进行分组,每组 10 只。腹腔给药后给予 LD₅₀ 照射。照后第 7 天处死小鼠,取胸腺及脾脏,称量,计算胸腺及脾脏系数。

1.8 小鼠照后外周血白细胞计数 小鼠按方法 1 进行分组,每组 20 只。腹腔给药后给予 LD₅₀ 照射。照后按时尾静脉取血 5 μl/只,利用 CASY 自动细胞计数仪进行外周血白细胞计数,共观察 30 d。

1.9 照后小鼠体内外源性脾集落形成单位(CFU-S)计数 小鼠按方法 3 进行分组,每组 15 只。受体组小鼠预先进行 γ 射线全身照射(剂量率 1.0 Gy/min,吸收剂量 7.2 Gy)后备用。供体组小鼠按组别腹腔给药后给予 LD₅₀ 照射。照后处死供体组小鼠,取供体鼠双侧股骨内骨髓细胞,用含 2% 胎牛血清的 IMDM 培养液制成单细胞悬液,计数后配成 5×10⁵/ml 密度备用。取供体组小鼠,按组别与受体组小鼠一一对应的情况下,将制备好的细胞悬液经尾静脉注射到受体组小鼠体内,注射量 0.2 ml/只。正常饲养 9 d 后处死受体鼠,取脾脏,用 Bouin 固定液处理 24 h 后计数脾结节数。

1.10 照后小鼠体外粒-单系细胞集落形成单位(CFU-GM)计数 小鼠按方法 1 分为 4 组,每组 10 只。腹腔给药后给予 LD₅₀ 照射。照后处死各组小鼠,取小鼠双侧股骨内骨髓细胞,NH₄Cl 破红后计数,用含有 2% 胎牛血清的 IMDM 培养液重悬至 1.5×10⁵/ml 密度,取 0.3 ml 细胞悬液与 3 ml 小鼠粒单系甲基纤维素培养液充分混匀,吸入 5 ml 注射器,以 16 号针头对 6 孔板点板,每孔 1 ml。每只小鼠所取的骨髓细胞种 3 个复孔。37℃、5% CO₂、≥95% 湿度条件下培养 12 d,对 ≥30 个细胞的粒单系克隆进行计数。

1.11 统计学处理 所得实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 11.0 软件对各组数据进行单因素方差分析。检验水平(α)为 0.05。

2 结 果

2.1 小鼠照后生存率及平均存活时间 100 mg/kg 富勒烯衍生物 C₃可以明显提高 γ 射线照后小鼠 30 d 生存率($P<0.01$),但与 200 mg/kg WR-2721 尚有差距($P<0.01$)。在死亡动物平均存活时间方面,C₃与生理盐水组间差异无统计学意义;WR-2721 组高于生理盐水组($P<0.05$),但与 C₃组之间差异无统计学意义。结果详见图 1。

2.2 小鼠照后体内氧化指标变化情况 单纯给予富勒烯 C₃对小鼠体内 SOD、GSH、MDA 血清浓度无影响;与生理盐水组相比,C₃可明显提高 γ 射线 LD₅₀照后小鼠血清 SOD 和 GSH 浓度($P<0.01$),降低血清 MDA 水平($P<0.01$)。结果见图 2。

2.3 小鼠照后胸腺及脾脏系数变化 γ 射线照后小鼠胸腺及脾脏系数显著降低;富勒烯 C₃可以明显提高照后小鼠胸腺及脾脏系数($P<0.01$),但提高幅度

小于 WR-2721($P<0.01$)。结果见图 3。

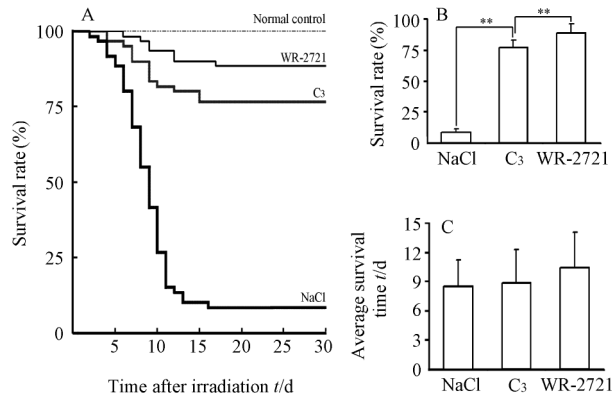


图 1 γ 射线照后 30 d 小鼠生存率及死亡动物平均存活时间
Fig 1 Survival rate of BALB/c mice 30 days after γ-ray irradiation and average survival time of dead animals

A: K-M curve of BALB/c mice after γ-ray irradiation; B: The time period in Fig 1. A was summarized; C: Average survival time of dead mice. ** $P<0.01$

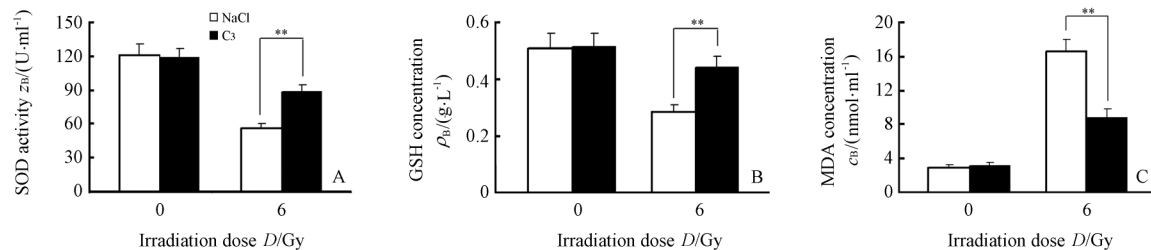


图 2 γ 射线照后小鼠体内血清 SOD、GSH 和 MDA 浓度变化
Fig 2 Serum levels of SOD, GSH, and MDA in BALB/c mice after γ-ray irradiation
A: Serum level of SOD; B: Serum level of GSH; C: Serum level of MDA. ** $P<0.01$

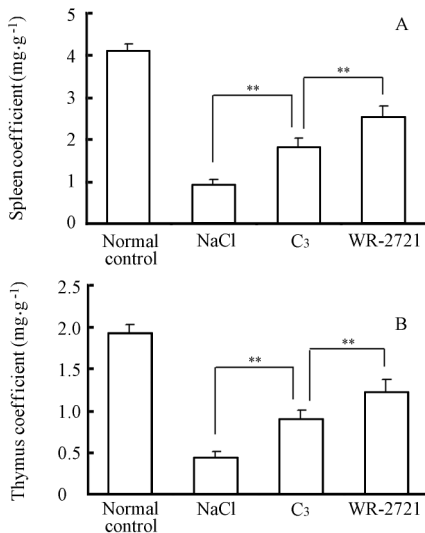


图 3 γ 射线照后小鼠胸腺及脾脏系数变化
Fig 3 Thymus and spleen coefficients of BALB/c mice after γ-ray irradiation

A: Thymus coefficient; B: Spleen coefficient. ** $P<0.01$

2.4 小鼠照后外周血白细胞计数的变化 γ 射线照后小鼠外周血白细胞计数显著下降,顿挫回升期不明显;富勒烯 C₃可以提高 γ 射线照后小鼠外周血白细胞计数水平($P<0.01$),可见明显顿挫回升期,但提高程度小于 WR-2721 ($P<0.01$)。结果见图 4。

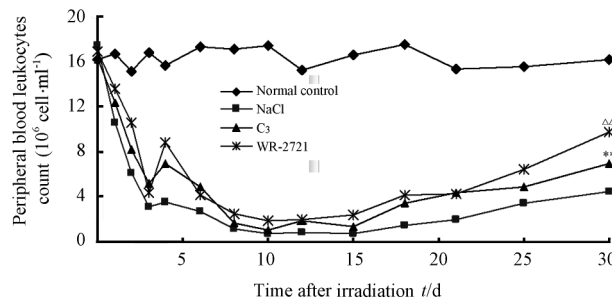


图 4 γ 射线照后 30 d 小鼠外周血白细胞计数
Fig 4 Leukocyte count 30 days after γ-ray irradiation in mice
** $P<0.01$ vs NaCl group; $\triangle\triangle P<0.01$ vs C₃ group

2.5 照后小鼠体内外源性 CFU-S 及体外 CFU-GM 计数的变化 与生理盐水组比较,富勒烯 C₃ 可以明显提高照后小鼠 CFU-S 数量($P<0.01$)和体

外 CFU-GM 数量($P<0.01$);但无论 CFU-S 或 CFU-GM 计数均低于 WR-2721 组($P<0.01$)。结果见图 5。

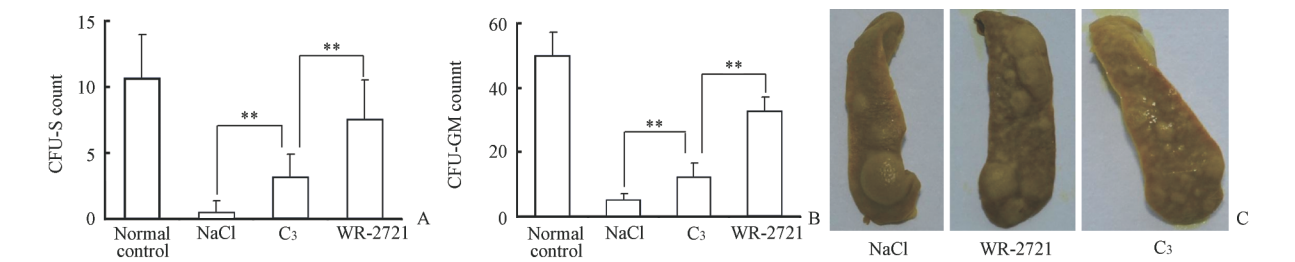


图 5 γ 射线照后小鼠外源性 CFU-S 及体外 CFU-GM 计数
Fig 5 Numbers of exogenous CFU-S and *in vitro* CFU-GM in γ-ray irradiated mice
A: Exogenous CFU-S; B: *In vitro* CFU-GM; C: Photograph of CFU-S. * $P<0.01$

3 讨论

富勒烯母体 C₆₀ 是由 60 个碳原子构成的完全对称的 32 面体球形中空碳笼,由于其结构中没有游离的碳原子,富勒烯的结构比较稳定^[17]。富勒烯可与多种自由基反应获得加合物,其碳笼结构上的双键可以加成多达 34 个自由基,具有很强的自由基清除能力,据报道 C₆₀ 的抗氧化能力是其他抗氧化剂的上百倍^[9]。但极低的水溶性严重限制了富勒烯在生物领域的应用,目前主要通过富勒烯碳笼结构上添加水溶性基团来解决这一问题。

Lamparth 和 Hirsch^[15] 通过在富勒烯骨架上连接 6 个羧基首次构建了富勒烯衍生物 C₃,不仅显著提高了其水溶性,同时明显减轻了富勒烯母体的生物毒性。Dugan 等^[11] 在 1977 年首次利用电子自旋共振技术证实 C₃ 可以高效清除羟自由基和超氧阴离子,抑制脂质过氧化反应,减轻 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)诱导的皮质神经元细胞兴奋毒性死亡。C₃ 还可以显著降低小鼠衰老过程相关的氧化应激水平和线粒体内自由基,明显提高小鼠平均寿命和认知能力^[12]。实验还发现,富勒烯 C₃ 在生物机体内主要通过过氧化物歧化作用来保护机体免受过氧化物损伤,其机制类似于 SOD^[10]。

自由基介导的间接损伤在电离辐射引发的生物效应中占主要作用,约 80% 以上的电离辐射损伤均由自由基引起,其中羟自由基又是诱发损伤的主要自由基,由其介导的组织损伤约占 60%~70%。如果在受照时或受照后能及时有效地清除自由基,便可以在很大程度上减轻电离辐射对机体的损伤作用。因此,具有强大自由基清除能力的富勒烯及其衍生物在辐射防护领域有很好的研究前景^[18-22]。但

是目前关于 C₃ 在辐射方面的研究较少,而且主要局限于体外细胞学方面。C₃ 对活体动物是否具有辐射防护效果,其防护效价及作用机制值得深入探讨。

本研究发现,照前半小时腹腔注射 100 mg/kg C₃ 可明显提高 BALB/c 小鼠 γ 射线照后 30 d 生存率,但死亡动物平均存活时间并无明显延长。C₃ 还可以提高照后小鼠外周血白细胞计数水平,提高顿挫回升期白细胞升高幅度,表明 C₃ 对外周血白细胞具有一定辐射防护效果。造血组织是机体内对辐射最敏感的组织之一,对造血系统的防护效果,直接关系到受照动物或人员的预后情况。本研究发现,C₃ 可以显著提高小鼠外源性 CFU-S 和体外 CFU-GM 计数水平,表明 C₃ 对小鼠的造血干细胞有较好的辐射防护效果。

机体内的过氧化物主要由抗氧化系统通过自身的氧化来清除^[23]。抗氧化系统对机体辐射损伤防护具有十分重要的作用^[24],抗氧化剂(如 SOD、GSH)的降低会导致辐射损伤的加重。因此,保护机体抗氧化系统有助于减轻电离辐射的损伤效应。本研究发现,照前给予 C₃ 可以明显提高照后小鼠血清 SOD 和 GSH 的含量,提示 C₃ 可以减少辐射产生的过氧化物对机体抗氧化剂的消耗。但是抗氧化剂主要与超氧阴离子(O₂⁻)和过氧化氢(H₂O₂)进行反应,羟自由基(·OH)和亚硝酸阴离子(ONOO⁻)无法被抗氧化系统解毒^[25]。而羟自由基是辐射产生的主要有害自由基,极易与细胞内的生物大分子,如 DNA、蛋白及脂质发生反应,引起强烈的毒性作用。羟自由基可引起脂质氧化生成 MDA,MDA 水平的升高表明细胞膜系统损伤加剧^[26]。本研究发现 C₃ 可以显著降低照后小鼠体内 MDA 水平,提示 C₃ 可能通过清除羟自由基水平,减少机体细胞膜系统损伤。

但本实验同时发现 C_3 在照后小鼠生存率、外周血白细胞数量、外源性 CFU-S 及体外 CFU-GM 数量上均不及阳性对照药物 WR-2721。WR-2721(又称氨磷汀)是目前唯一通过美国 FDA 认证的可用于人体的辐射防护药物,是目前防护效果最好的抗辐射药物^[27]。但 WR-2721 的不良反映较大,主要有头晕、恶心、腹部不适、呕吐、血压升高等,人员接受性相对较差^[28],一定程度上限制了其在临床上的广泛应用。虽然在防护效价上尚有不足,但富勒烯所具备的自由基强力清除能力,提示富勒烯及其衍生物在辐射防护方面将具有很高的应用价值及潜力。本实验可为今后富勒烯及其衍生物在辐射防护方面的研究提供部分理论及数据基础。

综上所述,本研究证实富勒烯衍生物 C_3 对活体实验动物具有较好的辐射防护效应,其机制可能与 C_3 的自由基清除能力有关,但仍需进一步的深入研究。

[参考文献]

- [1] Kroto H W, Heath S, O'Brien S C, Curl R F, Smalley R E. C_{60} : Buckminsterfullerene [J]. *Nature*, 1985, 318: 162-163.
- [2] Tsao N, Luh T Y, Chou C K, Chang T Y, Wu J J, Liu C C, et al. *In vitro* action of carboxyfullerene [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2002, 49: 641-649.
- [3] Nielsen G D, Roursgaard M, Jensen K A, Poulsen S S, Larsen S T. *In vivo* biology and toxicology of fullerenes and their derivatives [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008, 103: 197-208.
- [4] Dugan L L, Lovett E G, Quick K L, Lotharius J, Lin T T, O'Malley K L. Fullerenebased antioxidants and neurodegenerative disorders [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2001, 7: 243-246.
- [5] Ryman-Rasmussen J P, Tewksbury E W, Moss O R, Cesta M F, Wong B A, Bonner J C. Inhaled multiwalled carbon nanotubes potentiate airway fibrosis in murine allergic asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009, 40: 349-358.
- [6] Roursgaard M, Poulsen S S, Kepley C L, Hammer M, Nielsen G D, Larsen S T. Polyhydroxylated C_{60} fullerene (fullerenol) attenuates neutrophilic lung inflammation in mice [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008, 103: 386-388.
- [7] Basso A S, Frenkel D, Quintana F J, Costa-Pinto F A, Petrovic-Stojkovic S, Puckett L, et al. Reversal of axonal loss and disability in a mouse model of progressive multiple sclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118: 1532-1543.
- [8] Osuna S, Swart M, Solà M. On the mechanism of action of fullerene derivatives in superoxide dismutation [J]. *Chemistry*, 2010, 16: 3207-3214.
- [9] Krusic P J, Wassermann E, Keizer P N, Morton J R, Preston K F. Radical reaction of C_{60} [J]. *Science*, 1991, 254: 1183-1185.
- [10] Ali S S, Hardt J I, Quick K L, Kim-Han J S, Erlanger B F, Huang T T, et al. A biologically effective fullerene (C_{60}) derivative with superoxide dismutase mimetic properties [J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37: 1191-1202.
- [11] Dugan L L, Turetsky D M, Du C, Lobner D, Wheeler M, Almlie C R, et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 9434-9439.
- [12] Quick K L, Ali S S, Arch R, Xiong C, Wozniak D, Dugan L L. A carboxyfullerene SOD mimetic improves cognition and extends the lifespan of mice [J]. *Neurobiol Aging*, 2008, 29: 117-128.
- [13] Fenoglio I, Tomatis M, Lison D, Muller J, Fonseca A, Nagy J B, et al. Reactivity of carbon nanotubes: free radical generation or scavenging activity? [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40: 1227-1233.
- [14] Tong J, Zimmerman M C, Li S, Yi X, Luxenhofer R, Jordan R, et al. Neuronal uptake and intracellular superoxide scavenging of a fullerene (C_{60})-poly(2-oxazoline)s nanoformulation [J]. *Biomaterials*, 2011, 32: 3654-3665.
- [15] Lamparth I, Hirsch A. Water-soluble malonic acid derivatives of C_{60} with a defined three-dimensional structure [J]. *J Chem Soc Chem Commun*, 1994, 14: 1727-1728.
- [16] Huang Y C, Shan H S, Liu H C, Cai J M, Cui J G, Sun D, et al. Synthesis of carboxyl-fullerene C_3 and its radio-protection effects in cell [J]. *J Radiat Res Radiat Process*, 2009, 27: 115-119.
- [17] Terrones M, Terrones H. The carbon nanocosmos: novel materials for the twenty-first century [J]. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci*, 2003, 361: 2789-2806.
- [18] Lin H S, Lin T S, Lai R S, D'Rosario T, Luh T Y. Fullerenes as a new class of radioprotectors [J]. *Int J Radiat Biol*, 2001, 77: 235-239.
- [19] Trajkovic S, Dobric S, Jacevic V, Dragojevic-Simic V, Milovanovic Z, Dordevic A. Tissue-protective effects of fullerenol $C_{60}(OH)_{24}$ and amifostine in irradiated rats [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2007, 58: 39-43.
- [20] Daroczi B, Kari G, McAleer M F, Wolf J C, Rodeck U, Dicker A P. *In vivo* radioprotection by the fullerene nanoparticle DF-1 as assessed in a zebrafish model [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 7086-7091.
- [21] Brown A P, Chung E J, Urlick M E, Shield W P 3rd, Sowers A L, Thetford A, et al. Evaluation of the fullerene compound DF-1 as a radiation protector [J]. *Radiat Oncol*, 2010, 5: 34-42.
- [22] Saitoh Y, Miyanishi A, Mizuno H, Kato S, Aoshima H, Kokubo K, et al. Super-highly hydroxylated fullerene derivative protects human keratinocytes from UV-induced cell injuries together with the decreases in intracellular ROS generation and DNA damages [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2011, 102: 69-76.
- [23] Kalpana K B, Devipriya N, Srinivasan M. Investigation of the radioprotective efficacy of hesperidin against gamma-radiation induced cellular damage in cultured human peripheral blood lymphocytes [J]. *Mutat Res*, 2009, 676: 54-61.
- [24] el-Nahas S M, Mattar F E, Mohamed A A. Radioprotective effect of vitamins C and E [J]. *Mutat Res*, 1993, 301: 143-147.
- [25] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals [J]. *Nat Med*, 2007, 13: 688-694.
- [26] Dubner D, Gisone P, Jaitovich I, Perez M. Free radicals production and estimation of oxidative stress related to γ -irradiation [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1995, 47: 265-270.
- [27] Gosselin T K, Mautner B. Amifostine as a radioprotectant [J]. *Clin J Oncol Nurs*, 2002, 6: 175-176, 180.
- [28] Genvresse I, Lange C, Schanz J, Schweigert M, Harder H, Possinger K, et al. Tolerability of the cytoprotective agent amifostine in elderly patients receiving chemotherapy: a comparative study [J]. *Anticancer Drugs*, 2004, 12: 345-349.