

- Natl Acad Sci USA,2001,98(10):5874—5879.
- [31] Ninomiya M, Yamashita T, Araki N, et al. Enhanced neurogenesis in the ischemic striatum following EGF-induced expansion of transit-amplifying cells in the subventricular zone [J]. Neurosci Lett,2006,403(1):63—67.
- [32] Teramoto T, Qiu J, Plumier JC, et al. EGF amplifies the replacement of parvalbumin-expressing striatal interneurons after ischemia[J]. Clin Invest,2003,111(8):1125—1132.
- [33] Tureyen K, Vemuganti R, Bowen KK, et al. EGF and FGF-2 infusion increases post-ischemic neural progenitor cell proliferation in the adult rat brain[J]. Neurosurgery,2005,57(6):1254—1263.
- [34] Miller JT, Bartley JH, Wimborne HJ, et al. The neuroblast and angioblast chemotactic factor SDF-1 CXCL12. expression is briefly up regulated by reactive astrocytes in brain following neonatal hypoxic-ischemic injury [J]. BMC Neurosci, 2005,6:63.
- [35] Robin AM, Zhang ZG, Wang L, et al. Stromal cell-derived factor 1 α mediates neural progenitor cell motility after focal cerebral ischemia[J]. Cereb Blood Flow Metab,2006,26(1):125—134.
- [36] Lee SR, Kim HY, Rogowska J, et al. Involvement of matrix metalloproteinase in neuroblast cell migration from the subventricular zone after stroke[J]. Neurosci,2006,26(13):3491—3495.
- [37] Wang YQ, Guo X, Qiu MH, et al. VEGF overexpression enhances striatal neurogenesis in brain of adult rat after a transient middle cerebral artery occlusion [J]. Neurosci Res, 2007,85(1):73—82.
- [38] Yamashita T, Ninomiya M, Sunabori T, et al. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum [J]. Neurosci,2006,26(24):6627—6636.
- [39] Bingham B, Liu D, Wood A, et al. Ischemia-stimulated neurogenesis is regulated by proliferation, migration, differentiation and caspase activation of hippocampal precursor cells[J]. Brain Res,2005,1058(1):167—177.
- [40] Zhang R, Xue YY, Lu SD, et al. Bcl-2 enhances neurogenesis and inhibits apoptosis of newborn neurons in adult rat brain following a transient middle cerebral artery occlusion [J]. Neurobiol Dis,2006,24(2):345—356.
- [41] Chou J, Harvey BK, Shen H, et al. Neuroregenerative effects of BMP7 after stroke in rats[J]. Neuro Sci,2006,240:21—29.
- [42] Pereira LO, Arteni NS, Petersen RC, et al. Effects of daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat [J]. Neurobiol Learn Mem,2007, 87(1):101—108.
- [43] 丁继固,丁文杰,李光,等.胶质源性神经营养因子体外诱导小鼠胚胎中神经干细胞分化的研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2008,23(4):341—343.

· 综述 ·

单细胞凝胶电泳技术在运动医学中的应用*

刘晓莉¹ 苏美华¹ 侯金芸¹

单细胞凝胶电泳 (single cell gel electrophoresis, SCGE) 又称彗星实验 (comet assay), 是近年来发展起来的一种在单细胞水平上检测 DNA 损伤与修复的新技术。SCGE 实验最初由 Rydbery 和 Johanson (1978) 提出, 以后经 Ostling 和 Johanson^[1](1984)及 Singh^[2](1988)等对实验条件进行改良, 使其具有简便快速、灵敏性高、重复性好、无需放射性标记等优点, 目前已被广泛应用于临床药物筛选、肿瘤诊断与治疗、衰老和细胞凋亡机制的探讨以及遗传毒理学和生物监测等研究领域^[3-5]。随着 SCGE 技术的不断成熟和完善, 国外一些学者已将 SCGE 技术运用于运动员的训练监控和运动性伤病的早期诊断等方面, 本文就 SCGE 技术在运动医学领域的应用做简要综述。

1 SCGE 的检测原理

SCGE 是一种在单细胞水平上检测真核细胞 DNA 单、双链断裂和碱性不稳定位点的方法。该技术的原理是包埋于琼脂糖中的细胞在细胞裂解液的作用下, 细胞膜、核膜及其他膜结构被破坏, 核基质也被溶解、抽提, 胞内蛋白质、RNA 及其他成分均可进入凝胶而扩散至裂解液中, 而核 DNA 分子量很高, 不能进入凝胶, 只能留于原位。当各种 DNA 损伤因

子诱发细胞 DNA 链断裂时, 正常的 DNA 超螺旋结构变得松弛, DNA 环向外伸展, 链缺口暴露了负电荷, 且 pH>13 的强碱性条件促使 DNA 变性和解螺旋。电泳时分子量较小、本身带负电荷的 DNA 断片离开主核向阳极迁移, 经荧光染料染色后, 荧光标记的 DNA 形成彗星状图像中的彗尾, 故又名彗星实验。细胞受损越严重, 断片越多, 含 DNA 链缺口越多, 则进入尾部的 DNA 越多, 表现为尾长和尾部荧光强度增加。未损伤细胞在电泳中 DNA 仍停留于核中, 形成圆形荧光团, 而无彗星样尾部。

2 SCGE 实验方法

SCGE 实验主要是根据 Singh 等的方法^[2], 不同实验室结合各自不同的实验条件略加修改^[6]。通常的实验步骤如下:

2.1 细胞准备

在体外实验中, 将对数期生长的细胞用胰蛋白酶消化,

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30771050); 北京市自然科学基金资助项目 (5072024)

¹ 北京师范大学体育与运动学院, 北京, 100875

作者简介: 刘晓莉, 女, 教授, 博士

收稿日期: 2007-10-08

收集细胞备用。在体内实验中,取需测试的脏器或组织,用磷酸缓冲液(PBS)洗净后,剪至糜状,滴加 PBS 研磨,过 300 目筛子,收集细胞悬浮于 PBS 中,细胞密度为 106 个/ml,台盼蓝染色、镜检、细胞存活率 90 %以上,即可进行以下操作。

2.2 胶板的制备

将 80 μ l 预热 45 $^{\circ}$ C 的 0.6 %正常熔点琼脂糖 (NMA),滴到同样预热的载玻片的磨砂面,迅速盖上干净的盖玻片,室温下 10min 使其凝固;将 10 μ l 含 1000 个细胞的 PBS 和 75 μ l 0.6%的低熔点琼脂糖(LMA)在 37 $^{\circ}$ C 混匀,轻轻揭去盖玻片,将含细胞的 LMA 滴到第 1 层胶板上,立即盖上干净的盖玻片,室温放置 10min 使其凝固;最后在凝固的 LMA 层滴加预热 37 $^{\circ}$ C 的 0.6%的 LMA,盖上盖玻片,使其凝固。第 1 层的主要目的是使第 2 层平整和附着紧密,第 3 层胶的目的是对第 2 层细胞起保护作用。

2.3 细胞裂解

移去盖玻片,将载玻片浸入新配置的细胞裂解液(2.5mol/L NaCl, 100mmol/L Na₂EDTA, 10mmol/L Tris, 1%肌氨酸钠, pH10, 用前加入 1 %体积的 Tri-tonx100, 10%的二甲基亚砜)中至少 1h。此步骤的目的是溶解细胞膜及核膜,除去蛋白质、RNA 等,仅存留核骨架。

2.4 碱解旋

裂解 1h 后,取出载玻片,用 PBS 冲洗 2 次,以去掉载玻片表面高浓度的盐,然后将载玻片置于水平电泳槽中,倒入新配置的碱性电泳缓冲液(1mmol/L Na₂EDTA, 300mmol/L NaOH, pH13),约覆过胶面 0.25cm 左右,碱解旋 20min,以便使 DNA 在碱性条件下解螺旋成单链 DNA,使 DNA 断片在电泳场中易于迁移。

2.5 电泳

以 0.7V/cm 电压电泳 20min。

2.6 中和与染色

电泳完毕后,将载玻片取出,吸水纸吸干电泳缓冲液,用 0.4mol/L 的 Tris-HCl (pH7.5) 中和 15min。然后每片载玻片上滴加 50 μ l 30 μ g/ml 的溴化乙锭(EB) 水溶液,盖上盖玻片,染色 20min,即可观察。

2.7 观察

EB 染色后的样本应尽快在荧光显微镜下观察。DNA 图呈桔红色,每张载玻片随机拍摄 25 个细胞。

3 SCGE 图像的分析

近年来,各种彗星图像分析软件的产生使结果分析更加简单和快速,常用的软件为 CASP 彗星图像分析软件。SCGE 图像的分析指标可分为形状指标、距离指标、强度指标和综合指标^[7]。形状指标是根据细胞荧光图像是否像彗星一样头尾分明将其分为彗星样细胞和非彗星样细胞,通过计算彗星样细胞发生率估计 DNA 的损伤程度。距离指标是直接显微镜下或在照片上测出彗星的一些长度数值,如尾长、头长、总彗星长度、尾/头长、尾长/头部直径等,以评价 DNA 损伤程度。强度指标主要是测量"彗星"的荧光强度,反映电泳中泳动 DNA 的量,这类参数有尾密度、尾重心、尾光强、尾部 DNA 百分数等。由于形状指标用肉眼观察测量计算有误

差,而距离指标和强度指标也均不全面,因此将二者结合起来能够更全面地反映 DNA 的损伤程度,这类综合指标比上述的其他指标都优越,因而是目前国际上广泛采用的分析指标。如尾分布矩(tail moment)、彗星矩(comet moment)、尾惯量(tail inertia) 和 Olive 尾矩 (Olive tail moment) 等,其中 tail moment、tail inertia、Olive tail moment 被认为是计算机分析系统中较好的指标,它们均与 DNA 损伤的水平存在高度相关性^[8]。

4 SCGE 检测技术在运动医学中的应用

4.1 运动员的疲劳程度对 DNA 损伤的影响

Niess 等^[9]用 SCGE 技术对半程马拉松运动员 DNA 损伤情况进行检测,发现被检者在运动后 24h 血白细胞 DNA 损伤较安静时显著增加,尾长从 32.7 $\pm$ 2.2 μ m 增加到 40.7 $\pm$ 3.9 μ m($P<0.01$)。Tsai 等^[10]发现运动员在 42km 跑后 24h 外周血白细胞 DNA 损伤显著增加,且这种状况持续到运动后的第 7d 才恢复到运动前的安静水平。Hartmann 等^[11]报道了参加铁人三项全能比赛的运动员运动后即刻血白细胞 DNA 损伤增多,而损伤的高峰值则出现在运动后 72h,并在 5d 后恢复正常。Selman 等^[12]发现小鼠进行 1—7 天的短时间高强度运动后,骨骼肌细胞、淋巴细胞及肝细胞的 DNA 损伤均明显增多。可见高强度耐力训练会导致白细胞的 DNA 损伤。DNA 损伤程度和修复能力的降低可作为判断运动员疲劳程度的指标之一。

4.2 运动强度和运动持续时间对 DNA 损伤的影响

研究表明,不同运动强度与运动时间与运动者 DNA 损伤程度及恢复时间有一定的相关性。Tsai 等^[10]发现运动员进行长达 3h 以上的马拉松比赛后,其 DNA 单链断裂的程度及恢复时间均比平均运动时间为 2h 左右的三项全能比赛造成的 DNA 损伤更严重,从事短距离跑和一次性力竭运动后运动员 DNA 损伤程度和恢复时间均不及长时间超负荷的马拉松运动。Hartmann 等^[11]研究表明,运动员短距离跑后 24h 外周血淋巴细胞 DNA 迁移程度较运动后即刻明显,72h 后 DNA 迁移程度明显增加并达到最高值,并在 5d 后恢复正常。另外 Mars 等^[13]发现一次性力竭蹬车运动后受试者外周血淋巴细胞只在运动后即刻存在 DNA 单链损伤(10%),而在运动后 24h 和 48h 均无此情况发生。Peters 等^[14]以 8 名训练有素的耐力运动员为研究对象,让他们进行长达 2.5h 的亚极量跑台运动,分别在运动前、运动后即刻、运动后 3h 用 SCGE 技术检测淋巴细胞的 DNA 损伤情况,均未发现有明显的 DNA 损伤出现。Demirbag 等^[15]分析了 113 名未经训练的健康受试者自愿参加跑台运动对氧化损伤指标和 DNA 损伤的影响,发现跑台运动增加了氧化应激水平,但并没有引起 DNA 损伤。Wierzb 等^[16]研究发现,24 只雄性大鼠在一次力竭递增负荷跑台运动后淋巴细胞 DNA 损伤显著高于对照组。

4.3 运动水平与健康状况对 DNA 损伤的影响

运动者训练水平与健康状况也是造成 DNA 损伤程度差异的因素之一。Venditti 等^[17]对有训练和无训练的雄性大鼠力竭游泳运动后的 DNA 损伤程度进行比较,发现有训练的大鼠其 DNA 损伤程度明显小于没有训练的。Niess 等^[9]的研究也

发现,有训练的运动员 DNA 损伤程度明显低于无训练者。Nakamoto 等^[18]报道了有规律的运动可明显降低机体细胞核和线粒体 DNA 的氧化损伤。Mustafa 等^[19]分别选取心血管病患者、非心血管病患者以及健康人进行跑台运动,结果发现心血管病患者 DNA 损伤显著高于非心血管病患者和健康人,且非心血管病患者的 DNA 损伤也显著高于健康人。McKelvey-Martin 等^[20]对胃病患者的外周血淋巴细胞进行的彗星分析也发现,胃癌患者的淋巴细胞 DNA 损伤明显高于胃炎患者和健康人。Hofer 等^[21]发现女性 BMI 与 DNA 单链断裂水平存在明显的负相关。可见 DNA 损伤程度也可反映运动者的训练水平与健康状况。

4.4 不同运动环境及生活方式对 DNA 损伤的影响

SCGE 技术可用于检测环境改变对人群细胞 DNA 损伤的影响。Moller 等^[22]选取 12 名健康受试者分别在平原和高原(海拔 4559m)地区进行一次高强度训练,发现高原急性缺氧环境增加了被试外周血淋巴细胞的 DNA 损伤。Lundby 等^[23]也用 SCGE 技术研究 7 名健康受试者在海拔 4100m 的高原生活(包括日常锻炼)对肌组织 DNA 损伤的影响,发现 2 周后 DNA 链断裂增多,而 8 周后 DNA 损伤情况与平原生活的测试结果没有差异。Elvira 等^[24]让运动员分别在 28℃ 和 18℃ 室温下进行持续性踏车运动,用 SCGE 检测他们的外周血淋巴细胞,发现在 28℃ 下运动者 DNA 损伤程度显著低于 18℃,说明适宜的热环境对 DNA 损伤具有保护效应。Pandey 等^[25]选取在污染的城市环境中工作的 63 名黄包车夫(每天 7—9h 的体力活动)进行 SCGE 研究,发现他们的淋巴细胞的尾距、尾长及尾部 DNA 百分数都显著高于对照组。张金龙等^[26]用 SCGE 对 35 名混苯作业女工外周血淋巴细胞 DNA 的损伤情况进行检测分析,提示低浓度的混苯暴露可引起 DNA 损伤。Rojas 等^[27]调查了吸烟人群颊黏膜细胞 DNA 损伤情况并与不吸烟人群进行比较,发现吸烟者 DNA 损伤程度明显高于不吸烟者。Chang 等^[28]人用 SCGE 技术分析烟厂工人淋巴细胞 DNA 损伤情况,结果发现职业暴露组和吸烟组的尾距都显著大于对照组,且二者协同对 DNA 损伤作用更大。吴鲁平等^[29]研究了体育专业学生吸烟对外周血淋巴细胞 DNA 损伤的诱发效应,结果发现吸烟组的平均彗星尾长为 2.75μm,显著高于对照组 1.2μm($P<0.01$)。这些研究表明,活动环境和生活方式可以影响人群的 DNA 损伤程度。

4.5 抗氧化剂对 DNA 损伤的保护效应

急性剧烈运动时,机体清除活性氧(ROS)的能力不足以平衡运动应激产生的 ROS,造成抗氧化与氧化应激失衡,引起运动性内源活性氧产生增多,导致脂质、蛋白质、核酸等多种损伤。此种由运动引发的氧应激可称之为运动性氧应激(exercise-induced oxidative stress)。最近的一些研究报道发现,运动性氧应激与细胞 DNA 损伤有关^[30]。Mollerh 和马爱国等^[31—32]用彗星实验研究证实,补充 VitC 等抗氧化剂对 DNA 损伤具有保护效应。Karabiyi 等^[33]发现在饮食中补充 VE 会减少由于不饱和脂肪酸的大量摄入而引起的 DNA 氧化损伤。Mastaloudis 等^[34]观察了 21 名马拉松运动员补充抗氧化剂 VC 的效果,发现运动后补充 VC 的女运动员比服用安慰剂组的 DNA 损伤减少了 62%。Hartmann 等^[35]的实验表明,在大运动

量前后补充 VitE 可抑制 DNA 的损伤,且 VitE 的抗氧化作用与补充的持续时间成正比。Zhang 等^[36]发现补充牛黄酸可减缓一次性力竭运动所导致的 DNA 损伤。但 Davison 等^[37]的研究却发现,补充抗氧化剂对激烈有氧运动导致的 DNA 损伤的保护作用不明显。Tsakiris 等^[38]研究发现补充 L-半胱氨酸可以降低篮球运动员由于激烈训练所致的 DNA 损伤水平。Rush 等^[39]报道飞行员有规律地在膳食中给予猕猴桃,显著提高了人体白细胞修复自由基所致 DNA 链断裂的能力,每日猕猴桃膳食处方将会降低与癌症相关的危险因素。刘国安等^[40]采用 SCGE 研究了几种抗氧化剂对人外周血单核细胞 DNA 的损伤及对由 H₂O₂ 引起的 DNA 损伤的保护作用,发现不同抗氧化剂在不同的系统中具有不同的抗氧化性和促氧化性。可见采用 SCGE 技术检测运动员服用运动营养补剂对 DNA 损伤的保护效应具有良好的应用前景。

5 小结

DNA 损伤常见的有单链断裂、双链断裂、碱基缺失及修饰等。SCGE 技术由于需样品量少、对 DNA 损伤检出的灵敏性高、无需同位素标记、技术简单、费用低、能够快速、准确检测有害物质存在场所中各类人群的 DNA 损伤及筛检对 DNA 损伤因素敏感的高危人群。在现场人群白细胞或淋巴细胞的 DNA 损伤监测时,只需采集 10—20μl 的微量血液就可进行。因此,SCGE 技术今后将被广泛用于评价不同运动环境、运动强度对人体健康和运动能力的影响以及抗氧化剂补充对运动人群的保护效应的研究。另外,SCGE 具备对各种有核细胞的敏感性,不仅可研究活细胞 DNA 的损伤,也可研究死细胞的 DNA 损伤,从而避免了只能用活细胞(如染色体畸变、微核、姐妹染色单体互换等)的限制,因而其对于建立动物模型深入探讨运动性氧应激与 DNA 损伤的分子生物学机制仍不失为一种优越的研究方法。同时,SCGE 技术也将为运动性疾病和运动性疲劳的早期诊断提供更有效的实验方法和手段。

参考文献

- [1] Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damage in individual mammalian cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1984, 123(1): 291—298.
- [2] Singh NP, McCoy MT, Tice RR, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells[J]. Exp Cell Res, 1988, 175(1):184—191.
- [3] Roy MD. Approach for assessing total cellular DNA damage[J]. Biotechniques, 2007, 42 (4): 425—429.
- [4] 李志春. 单细胞凝胶电泳技术在职业性生物学监测中的应用[J]. 中国职业医学, 2002, 19 (2) : 49—50.
- [5] 邢彩虹,李桂兰,尹松年.单细胞凝胶电泳技术及其应用进展[J].卫生研究,2004,33(5):638—640.
- [6] 张波,刘承芸,孟紫强. 单细胞凝胶电泳技术在环境污染物检测中的应用[J].环境科学与技术, 2003,26(4): 43—44.
- [7] 乔琰,鲁志松,姚汉超,等. 彗星试验分析指标的进展和应用[J]. 卫生毒理学杂志, 2004, 18(3): 190—192.
- [8] 王小红,江洪. 单细胞凝胶电泳技术的研究进展及其应用[J].国外医学·临床生物化学与检验学分册, 2001, 22: 5—7.

- [9] Niess AM, Baumann M, Roecker K, et al. Effects of intensive endurance exercise on DNA damage in leucocytes [J]. *Sports Med Phys Fitness*, 1998, 8(2):111—115.
- [10] Tsai K, Hsu TG, Hsu KM, et al. Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise[J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 31(11):1465—1472.
- [11] Hartmann A, Pfuhler S, Dennog C, et al. Exercise-induced DNA effects in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine or induction of micronuclei[J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 24(2): 245—251.
- [12] Selman C, McLaren JS, Collins AR, et al. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and DNA oxidative damage: the effects of short-term voluntary wheel running[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 401(2): 255—261.
- [13] Mars M, Govender S, Weston A, et al. High intensity exercise's cause of lymphocyte apoptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 249(2):366—370.
- [14] Peters EM, Van Eden M, Tyler N, et al. Prolonged exercise does not cause lymphocyte DNA damage or increased apoptosis in well-trained endurance athletes [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2006, 98(2):124—131
- [15] Demirbag R, Yilmaz R, Güzel S, et al. Effects of treadmill exercise test on oxidative/antioxidative parameters and DNA damage[J]. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 2006, 6(2):135—140.
- [16] Wierzbica TH, Olek RA, Fedeli D, et al. Lymphocyte DNA damage in rats challenged with a single bout of strenuous exercise[J]. *Physiol Pharmacol*, 2006, 57(10):115—131.
- [17] Venditti P, Di Meo S. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1996, 331(1):63—68.
- [18] Nakamoto H, Kaneko T, Tahara S, et al. Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and modulates the DNA repair activity in the liver of old rats[J]. *Experimental Gerontology*, 2007, 42:287—295.
- [19] Mustafa G, Yildiz A, Demirbag R, et al. Increased lymphocyte deoxyribonucleic acid damage in patients with cardiac syndrome X [J]. *Mutat Res*, 2007, 617(1—2): 8—15.
- [20] Mckelvey-Martin VJ, Melia N, Walsh IK, et al. Two potential clinical applications of the alkaline single-cell gel electrophoresis assay: (1) Human bladder washings and transitional cell carcinoma of the bladder and (2) Human sperm and male infertility [J]. *Mutat Res*, 1997, 375(2):93—104.
- [21] Hofer T, Karlsson HL, Möller L, et al. DNA oxidative damage and strand breaks in young healthy individuals: A gender difference and the role of life style factors [J]. *Free Radical Research*, 2006, 40(7): 707—714.
- [22] Moller P, Loft S, Lundby C, et al. Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans[J]. *FASEB*, 2001, 15(7):1181—1186.
- [23] Lundby C, Pilegaard H, Van Hall G, et al. Oxidative DNA damage and repair in skeletal muscle of humans exposed to high-altitude hypoxia[J]. *Toxicology*, 2003, 192(2—3):229—236.
- [24] Elvira F, Roman V, Mathias S, et al. Inverse response of leukocyte heat shock proteins and DNA damage to exercise and heat [J]. *Free radical research*, 2003(37):975—982.
- [25] Pandey AK, Bajpayee M, Parmar D, et al. DNA damage in lymphocytes of Indian rickshaw pullers as measured by the alkaline comet assay [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2006, 47(1): 25—30.
- [26] 张金龙.低浓度混苯作业女工淋巴细胞 DNA 损伤的调查[J].中国工业医学杂志, 2006, 19(2): 117—118.
- [27] Rojas E, Valverde M, Sordo M. DNA damage in exfoliated buccal cells of smokers assessed by the single cell electrophoresis assay [J]. *Mutat Res*, 1996, 370:115—120.
- [28] Chang QZ, Tai HL, Chao QJ, et al. Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the Comet assay [J]. *Muta Res*, 1999, (444):1—6.
- [29] 吴鲁平. 吸烟对体育专业学生外周血淋巴细胞 DNA 损伤的研究[J]. *体育与科学*, 2003, 24(2): 53—55.
- [30] 刘晓莉,孙丽娜,乔德才. 运动性氧应激与 DNA 损伤[J]. *中国运动医学杂志*, 2006, 25(3): 332—333.
- [31] Moller P, Loft S. Oxidative DNA damage in human white blood cells in dietary antioxidant intervention studies [J]. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76(2): 303—310.
- [32] 马爱国, 刘四朝. 不同剂量维生素 C 对 DNA 氧化损伤影响的研究[J]. *营养学报*, 2001, 23(1): 12—14.
- [33] Karabiyik L, Sarda S, Polat U, et al. Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay [J]. *Mut Res*, 2001, 490(2): 123—129.
- [34] Mastaloudis A, Tian-Wei Yu, Robert P, et al. Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, 36(8): 966—975.
- [35] Hartmann A, Niess AM, Grunert-Fuchs M, et al. Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage [J]. *Mutat Res*, 1995, 346(4): 195—202.
- [36] Zhang M, Izumi I, Kagamimori S, et al. Role of taurine supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress in healthy young men[J]. *Amino Acids*, 2004, 26(2): 203—207.
- [37] Davison GW, Hughes CM, Bell RA. Exercise and mononuclear cell DNA damage: The effects of antioxidant supplementation [J]. *Int J Sport Nutr Exe*, 2005, 15 (5): 480—492.
- [38] Tsakiris S, Parthimos T, Parthimos N, et al. The beneficial effect of l-cysteine supplementation on DNA oxidation induced by forced training [J]. *Pharmacological Research*, 2006, 53:386—390.
- [39] Rush E, Ferguson LR, Cumin M, et al. Kiwifruit consumption reduces DNA fragility: a randomized controlled pilot study in volunteers [J]. *Nutrition Research*, 2006, 26: 197—201.
- [40] 刘国安,司玉春,冯瑞丽,等.几种抗氧化剂对 DNA 的损伤和保护作用[J]. *兰州大学学报*, 2005, 41(6): 50—53.