

# 瑞舒伐他汀对高同型半胱氨酸血症大鼠主动脉组织 Bcl-2 甲基化的影响

侯建军<sup>1</sup>, 贾绍斌<sup>2</sup>, 张政军<sup>1</sup>, 刘 静<sup>1</sup>, 汪 浩<sup>1</sup>, 李 录<sup>1</sup>, 黎 萍<sup>3</sup>

(1. 宁夏医科大学, 宁夏银川市 750004; 2. 宁夏医科大学总院心脏中心, 宁夏银川市 750004;  
3. 宁夏医科大学总院心脑血管病医院心内科, 宁夏银川市 750004)

[关键词] 瑞舒伐他汀; 动脉粥样硬化; 高同型半胱氨酸血症; Bcl-2 基因; DNA 甲基化

[摘要] **目的** 观察瑞舒伐他汀对高同型半胱氨酸血症(Hhcy)Wistar 大鼠主动脉组织 Bcl-2 甲基化水平及其表达的影响,探讨瑞舒伐他汀逆转 Hhcy 致动脉粥样硬化的可能机制。**方法** 实验选用 33 只健康雄性 5 周龄 Wistar 大鼠,体重 150±10 g,大鼠随机分为 3 组,对照组 11 只,Hhcy 组 11 只,瑞舒伐他汀组 11 只;对照组给予正常饮食,Hhcy 组给予正常饮食和蛋氨酸 1 g/(kg·d)灌胃,瑞舒伐他汀组给予正常饮食和蛋氨酸 1 g/(kg·d)加瑞舒伐他汀 10 mg/(kg·d)灌胃。16 周末处死大鼠,心脏取血,全自动生化仪测定血清同型半胱氨酸浓度;提取主动脉组织 DNA,甲基化特异性 PCR(MSP)联合巢式 PCR(nested PCR)检测 Bcl-2 启动子区甲基化水平,实时荧光定量 PCR 检测 Bcl-2 mRNA 的表达,免疫组化和 Western blot 检测 Bcl-2 蛋白的表达。**结果** 16 周蛋氨酸灌胃 1 g/(kg·d)可以诱导 Hhcy( $P<0.01$ );瑞舒伐他汀可以降低升高的同型半胱氨酸水平( $P<0.05$ );与对照组比较,Hhcy 组主动脉组织中 Bcl-2 启动子区域发生去甲基化,Bcl-2 mRNA、蛋白表达上调(均  $P<0.05$ );瑞舒伐他汀组主动脉组织中 Bcl-2 启动子区域甲基化的水平高于 Hhcy 组,Bcl-2 mRNA、蛋白的表达低于 Hhcy 组(均  $P<0.05$ )。**结论** 瑞舒伐他汀拮抗 Hhcy 大鼠主动脉组织的去甲基化,下调 Bcl-2 的表达,这可能是瑞舒伐他汀抗动脉粥样硬化的作用之一。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

## Rosuvastatin Affect Bcl-2 Methylation in Aorta of Rats with Hyperhomocysteinemia

HOU Jian-Xun<sup>1</sup>, JIA Shao-Bin<sup>2</sup>, ZHANG Zheng-Jun<sup>1</sup>, LIU Jing<sup>1</sup>, WANG Hao<sup>1</sup>, LI Lu<sup>1</sup>, and LI Ping<sup>3</sup>

(1. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, China; 2. Heart Center of General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia, China; 3. Department of Cardiology, Cardia-cerebrovascular Disease Hospital of General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

[KEY WORDS] Rosuvastatin; Atherosclerosis; Hyperhomocysteinemia; Bcl-2 Gene; DNA Methylation

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of rosuvastatin on methylation level and expression of Bcl-2 in aorta of rats with hyperhomocysteinemia. **Method** Thirty-three healthy five-week-old Wistar male rats, weighting (150±10)g, were randomly divided into the control, Hhcy and rosuvastatin groups ( $n=11$ , each). The control was given normal food. The Hhcy was given normal food and methionine [1g/(kg·d), orally]. The rosuvastatin was given normal food, methionine [1g/(kg·d), orally] and rosuvastatin [10 mg/(kg·d), orally]. Sixteen weeks later, rats were sacrificed and blood were taken from its heart. The homocysteine in serum was detected with automatic biochemistry analyzer. Methylation special PCR and nested PCR were used to examine methylation level of Bcl-2. Real-time PCR was used to detect mRNA expression. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect protein expression. **Results** Sixteen weeks later, the homocysteine in serum of Hhcy group were significantly higher than the control group ( $P<0.01$ ). Rosuvastatin can decrease homocysteine concentration ( $P<0.05$ ). The Hhcy group Bcl-2 promoter region was demethylation, Bcl-2 mRNA and protein expression increased compared to the control ( $P<0.05$ ). the rosuvastatin group Bcl-2 promoter

[收稿日期] 2012-12-11  
[基金项目] 宁夏回族自治区科技攻关资助项目(宁科技字 2011-25 号)  
[作者简介] 侯建军, 硕士研究生, 住院医师, 从事动脉粥样硬化的机制研究, E-mail 为 hjj200011085@163.com。通讯作者贾绍斌, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的机制与防治, E-mail 为 jsbxn@163.com。张政军, 硕士研究生, 住院医师, 从事动脉粥样硬化的机制研究。

region was hypermethylation, Bcl-2 mRNA and protein expression decreased compared to the Hhcy group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** Rosuvastatin can prevent demethylation of aorta in rats with hyperhomocysteinemia and down-regulate Bcl-2 expression, which may be one mechanism of its anti-atherosclerosis effect.

流行病学及实验室资料已经证实血浆同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 升高是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发生的重要危险因素<sup>[1]</sup>。随着表观遗传学的发展,有关心血管疾病表观遗传调控机制的研究逐渐成为研究的热点。有研究证实 DNA 甲基化在高 Hcy 血症 (Hhcy) 致 As 的形成中发挥着十分重要的作用<sup>[2]</sup>。本课题组前期的研究结果显示 Hhcy 与 As 主动脉组织中 Bcl-2 的去甲基化及其表达关系密切相关,能诱导 Bcl-2 去甲基化、上调 Bcl-2 的表达,促进血管平滑肌细胞迁移和增殖,进而导致 As 的发生和发展<sup>[3]</sup>。

瑞舒伐他汀是一种选择性 HMG-CoA 还原酶抑制剂,具有强效降胆固醇的作用,长期应用能够显著降低冠心病患者的死亡率。他汀类药物的许多作用与其降胆固醇效应无关,这些作用被称为“非降脂相关的心血管保护作用”<sup>[4]</sup>。但他汀类药物是否可以通过诱导主动脉组织 Bcl-2 基因甲基化水平改变抗 As 鲜有报道。本研究通过建立 Hhcy 大鼠模型,观察瑞舒伐他汀对 Hhcy 诱导的大鼠主动脉组织 Bcl-2 启动子甲基化及 mRNA 和蛋白的表达,探讨瑞舒伐他汀抗 Hhcy 诱导的 As 的可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物分组及标本采集

实验动物使用符合宁夏医科大学动物管理条例。33 只健康雄性 5 周龄 Wistar 大鼠,体重  $150 \pm 10$  g,购自兰州大学实验动物中心[合格证号:SCXK(甘)2009-0004]。适应性喂养 3 天,随机(随机数字表)分为对照组、Hhcy 组、瑞舒伐他汀组;对照组给予正常饮食,Hhcy 组给予正常饮食和蛋氨酸灌胃  $1 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,瑞舒伐他汀组给予正常饮食和蛋氨酸  $1 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  加瑞舒伐他汀  $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  灌胃;普通饲料由中国科澳有限公司提供,蛋氨酸由日本住友化学有限公司提供,瑞舒伐他汀由阿斯利康公司提供。16 周末,禁食 12 h,2% 盐酸利多卡因腹腔麻醉,心脏取血 8 mL,  $4000 \times g$  离心,立刻取血清送于宁夏医科大学总院检验科检测 Hcy;迅速沿脊柱前缘轻柔分离主动脉组织,保存于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱用于后续实验。

### 1.2 血浆 Hcy 浓度测定

Hcy 由宁夏医科大学总院检验科使用拜耳 AD-VIA2400 全自动生化仪测定。

### 1.3 基因组 DNA 的提取

使用 Promega DNA 纯化试剂盒严格按说明书操作提取基因组 DNA;保存于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱用于后续实验。

### 1.4 重亚硫酸盐修饰基因组 DNA

标本 DNA 在经过亚硫酸盐处理后,发生甲基化的 CpG 岛鸟嘌呤不变,即  $\text{Cm} \rightarrow \text{Cm}$ ;而未发生甲基化的 CpG 岛鸟嘌呤则变为尿嘧啶,即  $\text{C} \rightarrow \text{U}$ 。使用 EZ DNA Methylation Gold Kit 修饰试剂盒严格按说明书操作修饰基因组 DNA;修饰后 DNA 保存于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱用于后续实验。

### 1.5 甲基化特异性 PCR 检测 Bcl-2 启动子区甲基化水平

采用网上在线 (<http://www.urogene.org/methprimer/index.html>) 和 MethPrimer 设计 Bcl-2 (NM\_016993.1) 外引物和甲基化特异性 PCR (methylation specific PCR, MSP) 引物,见表 1。引物均由 Invitrogen 上海生物技术有限公司合成。为提高扩增效率,采用巢式 PCR 方法;PCR 反应体系:Green Master Mix  $12.5 \mu\text{L}$ ,上游引物  $1 \mu\text{L}$ ,下游引物  $1 \mu\text{L}$ ,DNA 模板  $3 \mu\text{L}$ ,加无酶水至  $25 \mu\text{L}$ 。Bcl-2 扩增反应条件: $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min,30 个循环( $94^\circ\text{C}$  30 s,  $51^\circ\text{C}$  30 s,  $72^\circ\text{C}$  1 min),以后每个循环退火温度降低  $0.5^\circ\text{C}$ ;20 个循环后退火温度降至  $41^\circ\text{C}$  ( $94^\circ\text{C}$  30 s,  $41^\circ\text{C}$  30 s,  $72^\circ\text{C}$  1 min),最后  $72^\circ\text{C}$  再延伸 7 min。以第 1 次 PCR 产物  $2 \mu\text{L}$  为模板,分别使用 Bcl-2M 和 Bcl-2U 进行第 2 轮扩增,条件同第 1 轮。取终产物  $5 \mu\text{L}$  在 1.5% 的琼脂糖凝胶中 80 V 电泳 25 min,美国伯乐 Bio-rad 凝胶成像系统测量甲基化和非甲基化条带灰度值;根据二者间比值计算样本甲基化水平,每组实验重复 3 次。

### 1.6 RT-PCR 检测大鼠主动脉组织 Bcl-2 mRNA 表达

按 Promega Z3100-SV Total RNA Isolation System 操作说明书提取大鼠主动脉组织 RNA。严格按照 SYBR ExScript TM RT-PCR Kit 反转录试剂盒说明书操作,获得 cDNA 保存于  $-80^\circ\text{C}$ 。引物由上海英俊生物公司合成, $\beta$ -actin 上游 5'-GTG GGG CGC

CCC AGC ACC A-3′, 下游 5′-CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TC-3′, 产物长度 153 bp; Bcl-2 (NM\_016993.1) 上游 5′- TGA ACC GGC ATC TGC ACA C-3′, 下游 5′- CGT CTT CAG AGA CAG CCA GGA G-3′, 产物长度 96 bp; 使用 LightCycler® II 实时荧光定量 PCR (罗氏公司), 每个样品设置复孔 3 个; 反

应体系: SYBR Green 染料 12.5 μL, 上、下游引物各 1 μL, cDNA 5.5 μL, 无酶水 5 μL, 反应体系共 25 μL。PCR 扩增条件: 反应程序为 95℃ 2 min, 循环反应为 94℃ 5 s, 55℃ 10 s, 45 个循环; 根据 Schefe 等<sup>[5]</sup> 相对定量法  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  公式计算目的基因 mRNA 的相对表达量。

表 1. Bcl-2 基因巢式 PCR 和甲基化特异性 PCR 引物

Table 1. Primers of Bcl-2 for nested PCR and MSP

基因	引物(5′→3′)	片段长度(bp)	退火温度(℃)
Bcl-2N	F: 5′-TTGTTTGTATTTAGTAAGTTGTTTTT- 3′	263	48.1
	R : 5′-AAAATCCTATAATTCTCCCCTCTTCT-3′		
Bcl-2M	F: 5′-TATGTTAGGATTATGGTTTTGAACG-3′	184	46
	R: 5′-ATCATTACCCAATTTAATAAACAACG-3′		
Bcl-2U	F : 5′-TTATGTTAGGATTATGGTTTTGAATG-3′	185	45.5
	R : 5′-ATCATTACCCAATTTAATAAACAACAC-3′		

Bcl-2N 为外侧引物, Bcl-2M 为甲基化特异性内侧引物, Bcl-2U 为非甲基化特异性内侧引物。

1.7 免疫组织化学检测 Bcl-2 的表达

采用 PV 法: 按照厂家说明书严格操作; 主要试剂: 兔抗大鼠 Bcl-2 多克隆一抗 (美国 Protein Tech 公司) 及 PV 试剂盒。显微镜下胞浆或胞核有棕色颗粒者为阳性细胞数, 记数每个 400 倍视野中 100 个细胞中 Bcl-2 阳性细胞数, 每张切片中采集 5 个视野, 求出均值。

1.8 Western blot 检测蛋白表达

提取主动脉组织蛋白, Bradford 法测定蛋白浓度; 12% SDS-PAGE 凝胶分离, 转移到 PVDF 膜上, 恒定电流 50 min; 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入稀释于脱脂奶粉中的一抗 (Bcl-2, 1: 200) 或 β-actin 抗体 (1: 300) 4℃ 孵育过夜。TBS 洗涤后加入二抗 (辣根酶标记山羊抗兔 IgG, 1: 5000) 37℃ 孵育 1 h。洗膜后激发荧光, 显示于 X 光片, 显影、定影后进行图像分析; 结果以相对光密度 (relative optical density, ROD) × 面

积 (mm<sup>2</sup>) 表示。蛋白的相对含量 = (目的蛋白条带 ROD × mm<sup>2</sup>) / (β-actin 条带 ROD × mm<sup>2</sup>)。

1.9 统计学处理

所得数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用方差分析及 *t* 检验, 由 SPSS13.0 统计软件处理, 进行正态分布检验和方差齐性检验后, 行单因素方差分析和 Tukeys 多重比较检验, *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠血清 Hcy、血脂指标

Hhcy 组血清 Hcy 较对照组明显升高 (*P* < 0.01), 而血脂差异无显著性; 瑞舒伐他汀组血清 Hcy 较 Hhcy 组明显降低 (*P* < 0.05), 而血脂差异无显著性 (表 2)。

表 2. 各组大鼠血清 Hcy、血脂水平的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

Table 2. Comparison of Hcy, lipid levels in every group

分组	Hcy (μmol/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)
对照组	8.52 ± 0.56	1.77 ± 0.16	1.82 ± 0.13	0.37 ± 0.11
Hhcy 组	75.23 ± 3.13 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.17	1.83 ± 0.15	0.38 ± 0.12
瑞舒伐他汀组	23.73 ± 1.65 <sup>b</sup>	1.76 ± 0.14	1.81 ± 0.12	0.36 ± 0.10

a 为 *P* < 0.05, 与对照组比较; b 为 *P* < 0.05, 与 Hhcy 组比较。

2.2 主动脉组织 Bcl-2 启动子甲基化水平

Hhcy 组主动脉组织 Bcl-2 基因启动子区甲基化水平低于对照组 ( $P < 0.05$ );瑞舒伐他汀组 Bcl-2 基因启动子区甲基化水平高于 Hhcy 组 ( $P < 0.05$ ;图 1 和表 3)。但与对照组比较差异无显著性。

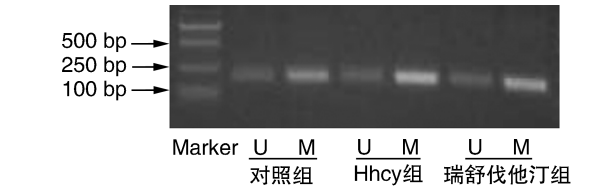


图 1. 大鼠主动脉组织 Bcl-2 启动子区甲基化水平 U:非甲基化条带 184 bp,M:甲基化条带 185 bp。

Figure 1. Bcl-2 promoter region methylation level in rat aorta

2.3 Bcl-2mRNA 在主动脉组织中的表达

Hhcy 组主动脉组织 Bcl-2 mRNA 表达高于对照组 ( $P < 0.05$ );瑞舒伐他汀组 Bcl-2 mRNA 表达明显

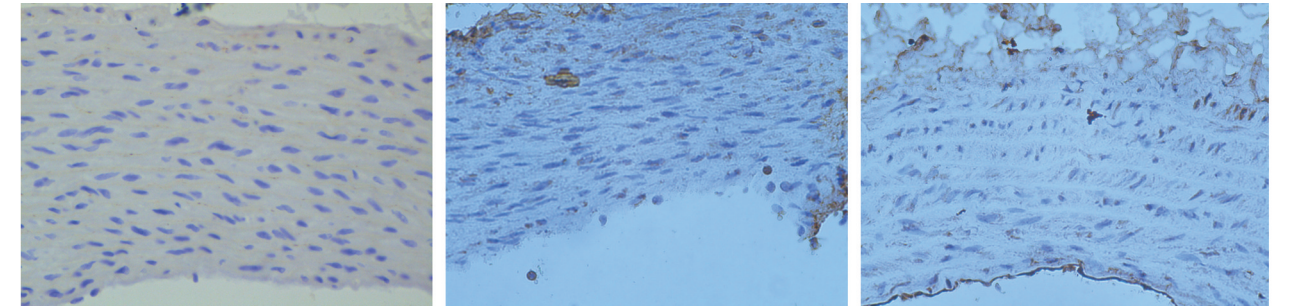


图 2. 各组主动脉组织中 Bcl-2 免疫组织化学染色 (×40) 从左到右为对照组、Hhcy 组和瑞舒伐他汀组。

Figure 2. Bcl-2 expression of aorta by immunocytochemistry staining in each group

2.5 Bcl-2 蛋白在主动脉组织中的表达

Western blot 检测发现,在 26 kDa 处检测到 Bcl-2 目的条带,在 42 kDa 处检测到内参  $\beta$ -actin;Hhcy 组 Bcl-2 蛋白表达明显高于对照组 ( $P < 0.05$ );瑞舒伐他汀组 Bcl-2 蛋白表达明显低于 Hhcy 组 ( $P < 0.05$ ;图 3 和表 4)。

表 4. Bcl-2 在主动脉组织的表达及其比较分析( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

Table 4. The expression and comparison of Bcl-2 in aorta of rat( $\bar{x} \pm s$ )

分组	Bcl-2 蛋白 相对表达量	Bcl-2 阳性细胞数
对照组	0.11 ± 0.02	1.82 ± 0.29
Hhcy 组	0.75 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.79 ± 0.67 <sup>a</sup>
瑞舒伐他汀组	0.31 ± 0.01 <sup>b</sup>	6.11 ± 0.61 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 Hhcy 组比较。

低于 Hhcy 组 ( $P < 0.05$ ),但与对照组比较差异无显著性(表 3)。

表 3. 大鼠主动脉组织 Bcl-2 启动子区甲基化水平及 mRNA 表达相对值( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

Table 3. Bcl-2 promoter region methylation level and mRNA expression relative quantity in aorta of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	Bcl-2 甲基化 水平相对值	Bcl-2 mRNA 相对表达量
对照组	1.28 ± 0.02	0.29 ± 0.05
Hhcy 组	1.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.03 <sup>a</sup>
瑞舒伐他汀组	1.21 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.06 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 Hhcy 组比较。

2.4 Bcl-2 在大鼠主动脉组织中的表达

Hhcy 组 Bcl-2 阳性细胞数明显高于对照组 ( $P < 0.05$ );瑞舒伐他汀组 Bcl-2 阳性细胞数明显低于 Hhcy 组 ( $P < 0.05$ ;图 2 和表 4)。

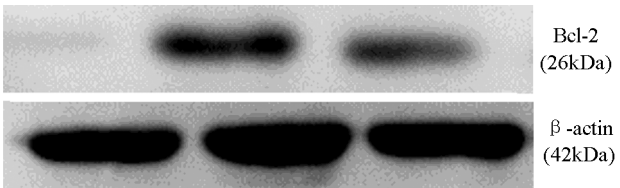


图 3. Western blot 检测各组主动脉组织中 Bcl-2 蛋白表达 A 为对照组,B 为 Hhcy 组,C 为瑞舒伐他汀组。

Figure 3. Western blot analysis of Bcl-2 protein expression of aorta in each group

3 讨 论

Hhcy 是高血脂、高血压、吸烟、糖尿病之外 As 形成的又一重要因素,但其致 As 的机制以及如何使用药物治疗 Hhcy 所致 As 尚不十分清楚<sup>[6]</sup>。DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶的催化下,将一个甲基基团添加在 DNA 分子的碱基上,常见的是加在胞



嘧啶上,形成 5-甲基胞嘧啶;甲基化下调基因的表达,去甲基化上调基因的表达。由于 Hcy 参与了蛋氨酸循环中的转甲基化反应,Hhcy 使转甲基受阻,蛋氨酸循环紊乱,从而促进 DNA 的甲基化状态发生变化<sup>[7]</sup>。目前研究表明 Hhcy 可引起基因启动子区 DNA 甲基化修饰状态的改变,进而发挥相应生物学效应<sup>[8]</sup>。有文献证实 Hhcy 可以引起雌激素受体基因甲基化,下调雌激素受体基因的表达,促进平滑肌细胞的迁移和增值,进而促进 As 的形成<sup>[9]</sup>。

DNA 甲基化是肿瘤形成过程中的一个早期事件<sup>[10]</sup>。基因甲基化在 As 的发生中扮演着重要的角色<sup>[2]</sup>。瑞舒伐他汀是一种较新的调脂药物,有亲油性、高肝选择性、较低的代谢率及与细胞色素 P450 之间作用较低等优点,用于治疗 As。瑞舒伐他汀在强大的降脂作用之外,还有许多独立于降脂之外的“多效性”作用<sup>[4]</sup>。因此本实验观察瑞舒伐他汀对 Hhcy 诱导的大鼠 Bcl-2 启动子甲基化及其表达的影响,探讨瑞舒伐他汀通过调节基因甲基化来阻止 Hhcy 诱导的 As 形成的可能机制,为 As 的防治提供新思路。

本研究结果显示:16 周末,与对照组比较,Hhcy 组血清 Hcy 明显升高,而血脂无明显差异;Hhcy 下调主动脉组织中 Bcl-2 启动子甲基化水平,上调 mRNA 及蛋白表达,Hhcy 组主动脉组织平滑肌 bcl-2 阳性细胞数明显高于对照组。与 Hhcy 组比较,瑞舒伐他汀组血清 Hcy 明显降低,而血脂无明显差异;瑞舒伐他汀可以降低血浆 Hcy 水平,上调主动脉组织 Bcl-2 基因启动子去甲基化水平,下调 mRNA 及蛋白的表达,瑞舒伐他汀组主动脉组织平滑肌 bcl-2 阳性细胞数明显少于 Hhcy 组。

近年来,细胞凋亡在 As 形成和进展中的作用逐渐成为研究的热点<sup>[11]</sup>。Bcl-2 是抑制凋亡基因,表达于线粒体外膜,而对细胞色素 C 的释放具有明显的调控效应,使细胞色素 C 的量不能达到激活下游胱冬肽酶的阈值,保护细胞不进入凋亡程序<sup>[12]</sup>。凋亡在 As 的发生发展中的作用具有两面性,Hhcy 作用后平滑肌细胞凋亡减弱,增殖增加,内皮细胞凋亡增加,促进早期 As 形成;瑞舒伐他汀作用后平滑肌细胞凋亡增加,增殖减弱,内皮细胞凋亡减弱,拮抗早期 As 的形成;单海燕等<sup>[13]</sup>证实他汀类药物可以改善内皮功能,减弱内皮细胞的凋亡。本研究发现瑞舒伐他汀拮抗 Bcl-2 基因去甲基化,使其表达减弱。瑞舒伐他汀拮抗 Bcl-2 基因去甲基化可能是其抗 As 的机制之一。

本实验表明瑞舒伐他汀上调 Hhcy 诱导的大鼠

Bcl-2 启动子甲基化及下调其表达,这可能是其降脂以外多种有益作用中的一种。但通常具有甲基基团的物质(如 5-氮杂胞苷、叶酸、甜菜碱)参与体内甲基化的转运与代谢,影响基因的甲基化水平;而瑞舒伐他汀是胆固醇合成过程中的关键酶 HMG-CoA 还原酶的特异性竞争抑制剂,自身化学结构不含甲基集团,却影响基因甲基化水平,提示可能存在更深层次抗 As 的作用机制,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Yang F, Tan HM, Wang H. Hyperhomocysteinemia and atherosclerosis[J]. Sheng Li Xue Bao, 2005, 57(2): 103-114.

[2] Jamaluddin MS, Yang X, Wang H. Hyperhomocysteinemia, DNA methylation and vascular disease[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(12): 1 660-666.

[3] 丛广志,贾绍斌,陈大鹏. 高同型半胱氨酸血症对主动脉组织 Bcl-2 基因甲基化影响[J]. 临床心血管病杂志, 2012, 28(4): 302-306.

[4] Luvai A, Mbagaya W, Hall AS, et al. Rosuvastatin: a review of the pharmacology and clinical effectiveness in cardiovascular disease [J]. Clin Med Insights Cardiol, 2012, 6: 17-33.

[5] Schefe JH, Lehmann KE, Buschmann IR, et al. Quantitative real-time RT-PCR data analysis: current concepts and the novel “gene expression’s CT difference” formula[J]. Mol Med(Berl), 2006, 84(11): 901-910.

[6] Caccjapuotj FL. Lowering homocysteine levels may prevent cardiovascular impairments? Possible therapeutic behaviors [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2012, 23(8): 677-679.

[7] Jiang YD, Li Z, Xu J. Homocysteine-mediated PPARalpha, gamma DNA methylation and its potential pathogenic mechanism in monocytes[J]. DNA Cell Biol, 2008, 27(3): 143-150.

[8] Wilson FA, Holtrop G, Calder AG, et al. Effects of methyl-deficient diets on methionine and homocysteine metabolism in the pregnant rat[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2012, 302(12): 1 531-540.

[9] 智艳芳,黄彦生,李著华,等. 动脉粥样硬化病人雌激素受体基因的甲基化与高同型半胱氨酸血症关系的研究[J]. 卫生研究, 2008, 37(3): 314-315.

[10] Golul G, Khosla S. DNA methylation and cancer[J]. Subcell Biochem, 2012, 61: 597-625.

[11] 谢遥,程晓曙. 肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(6): 492-494.

[12] Li HL, Huang XP, Zhou XH, et al. Correlation of seven biological factors ( Bcl-2, Bax, Cytochrome C, and Cleaved caspase3 ) with clinical outcomes of ALK + anaplastic large-cell lymphoma [J]. Biomed Environ Sci, 2011, 24(6): 630-641.

[13] 单海燕,刘 珠,白小涓. 阿托伐他汀通过调节 Bcl-2/Bax 蛋白表达延缓血管内皮细胞衰老[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(1): 11-15.

(此文编辑 李小玲)