

高同型半胱氨酸血症对 ApoE^{-/-} 鼠心肌酶谱的影响及与 P53 基因的相关性分析

姜怡邓¹, 杨安宁¹, 王菊², 巩慧慧², 马长剑², 杨晓玲¹, 李桂忠¹

(宁夏医科大学 1. 基础医学院, 2. 检验学院, 宁夏银川市 750004)

[关键词] 高同型半胱氨酸血症; 心肌酶谱; P53

[摘要] **目的** 探讨高同型半胱氨酸血症(HHcy)对载脂蛋白 E 基因敲除鼠(ApoE^{-/-}鼠)心肌酶谱变化的影响及其与 P53 基因的相关性分析。**方法** 分组: 正常对照组($n=12$)选择健康 5 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠(SPF 级), 饲以正常饮食; 另选用 SPF 级近交系 C57BL/6J 背景 5 周龄雄性 ApoE^{-/-}小鼠 36 只, 随机分为 3 组, 每组 12 只: ApoE^{-/-}鼠对照组、高蛋白组、干预组, 分别给予正常饮食、正常饮食加 1.7% 蛋氨酸、正常饮食加 1.7% 蛋氨酸加 0.006% 叶酸及 0.0004% 维生素 B₁₂。喂养 14 周后, 分离血清, 用全自动生化分析仪检测血清中同型半胱氨酸和心肌酶谱含量, 酶联免疫吸附法检测血清中氧化型低密度脂蛋白含量, 实时定量 PCR 和免疫组织化学法检测心脏 P53 mRNA 和蛋白表达。**结果** ApoE^{-/-}对照组、高蛋白组及干预组中血清同型半胱氨酸均升高, 其中以高蛋白组升高最显著($P<0.01$); 氧化型低密度脂蛋白含量亦平行升高, 与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。高蛋白组血清乳酸脱氢酶、羟丁酸脱氢酶和肌酸激酶及肌酸激酶同工酶含量较正常对照组明显增高, 在添加叶酸及维生素 B₁₂ 的干预组中血清肌酸激酶、肌酸激酶同工酶和羟丁酸脱氢酶含量较高蛋白组降低。实时定量 PCR 结果显示高蛋白组 P53 mRNA 表达上调, 免疫组织化学法检测 P53 蛋白的表达与其 mRNA 表达变化一致。P53 表达与血清肌酸激酶含量呈正相关($r=0.7061, P<0.01$)。**结论** HHcy 可引起 ApoE^{-/-}鼠心肌酶谱发生改变, 其机制可能与同型半胱氨酸导致的氧化应激有关。这种改变与 P53 的表达呈正相关, P53 亦可能参与其病理过程。补充叶酸及维生素 B₁₂ 对于食饵性 HHcy 具有良好的治疗效用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Hyperhomocysteinemia on the Changes of Myocardial Enzyme Spectrum in ApoE^{-/-} Mice and Its Correlation with P53 Gene

JIANG Yi-Deng¹, YANG An-Ning¹, WANG Ju², GONG Hui-Hui², MA Chang-Jian², YANG Xiao-Ling¹, and LI Gui-Zhong¹

(1. Department of Preclinical Medicine College, 2. Department of Inspection College, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

[KEY WORDS] Hyperhomocysteinemia; Myocardial Enzymes Spectrum; P53

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of hyperhomocysteinemia (HHcy) on the changes of myocardial enzyme spectrum and its correlation with P53 gene. **Methods** 36 male ApoE^{-/-} mice were randomly divided into 3 groups ($n=12$ for each group): ApoE^{-/-} control group, hyperhomocysteinemia group and intervention group. They were respectively fed with normal diet, normal diet enriched 1.7% methionine and normal diet plus 1.7% methionine 0.006% folate and 0.0004% vitamin B₁₂ for 14 weeks. 12 healthy 5-week-old male C57BL/6J mice were taken as normal control group. The levels of serum homocysteine (Hcy) and myocardial enzyme levels in the four groups were measured by automatic biochemical analyzer. The content of serum oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the protein and mRNA expressions of P53 in the heart were detected by immu-

[收稿日期] 2012-06-11

[基金项目] 国家自然科学基金(81160044); 2010 年教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-10-0916); 宁夏自然科学基金(NZ1086)

[作者简介] 通讯作者姜怡邓, 医学博士, 副教授, 研究方向为心血管病理生理, E-mail 为 jwcjyd@163.com。杨安宁, 硕士研究生, 研究方向为心血管病理生理, E-mail 为 yang513421717@126.com。王菊, 硕士研究生, 研究方向为心血管病理生理, E-mail 为 my2821@163.com。

nohis tochemical assay and real time polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** The content of Hcy was significantly higher in ApoE^{-/-} control group, HHcy group and folate treatment group than normal control group, a remarkable increase was observed in the HHcy mice ($P < 0.01$), the ox-LDL level showed a parallel increase with the Hcy, the difference was significant ($P < 0.05$). The contents of creatine kinase-MB (CK-MB), creatine kinase (CK), hydroxy butyrate dehydrogenase (HBDH) and lactate dehydrogenase (LDH) were increased significantly in HHcy group while folate and vitamin B₁₂ decreased serum CK-MB, CK and HBDH levels compared with HHcy group. The results of RT-PCR and immunohistochemical assay exposed an up-expressed P53 mRNA and protein in HHcy group. The changes of P53 mRNA and serum CK levels had positive correlation ($r = 0.7061$, $P < 0.01$). **Conclusions** Hyperhomocysteinemia could result in the changes of myocardial enzyme spectrum, the homocysteine-induced oxidative stress might be its major pathogenic mechanism. The up-expressed P53 might also be involved in its pathogenesis. Replenishment of folate and vitamin B₁₂ could significantly antagonize the detrimental effects of exogenous Hcy.

高同型半胱氨酸血症 (hyperhomocysteinemia, HHcy) 作为动脉粥样硬化的独立危险因素, 可因基因缺陷而发生, 如胱硫醚- β -合成酶、甲硫氨酸合酶、亚甲基四氢叶酸还原酶缺陷; 亦可因环境因素而发生, 如过量摄入蛋氨酸、叶酸缺乏等^[1,2]。前期实验证实, HHcy 导致载脂蛋白 E 基因敲除 (apolipoprotein E gene knocked-out, ApoE^{-/-}) 鼠动脉粥样硬化病形成且病变程度依赖血清同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 水平^[3]。如果在动脉粥样硬化易感基因缺失的背景下, 合并外源性 HHcy, 除引起动脉粥样硬化的发生, 是否会造成其他心血管系统的损伤? 其机制何在? 另有研究发现, P53 基因不仅与多种肿瘤密切相关, 并且参与心血管系统的损伤^[4,5], 但是, P53 是否参与 ApoE^{-/-} 鼠的心肌损伤有待进一步研究。因此, 本文选择载 ApoE^{-/-} 鼠为研究对象, 给予蛋氨酸饮食, 复制 HHcy 动物模型, 观察血清 Hcy 和心肌酶谱的改变及对 P53 基因表达的影响, 探讨基因和环境因素复合作用下, HHcy 对心脏的损伤效应。

1 材料与方 法

1.1 材 料

小鼠抗人单克隆抗体 P53、免疫组织化学染色试剂盒、苏木素染液和伊红染液 (北京博奥森生物技术公司); RNA 提取试剂 Trizol、逆转录试剂盒、实时定量聚合酶链反应 (real time polymerase chain reaction, RT-PCR) 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司); 氧化型低密度脂蛋白酶联免疫吸附法试剂盒 (RD 公司); 荧光定量 PCR 仪 (上海枫岭生物技术有限公司); 引物 (上海生工生物工程有限公司); Model680 全自动酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司); BS110S 型精密天平 (德国 Sartorius 公司)。

1.2 实验分组及模型建立

实验动物均购自北京大学实验动物中心。适应环境 1 周后分组: 选择性别、年龄与 ApoE^{-/-} 鼠匹配的健康雄性 C57BL/6J 小鼠 (SPF 级), 饲以正常饮食, 作为 (1) 正常对照组 ($n = 12$); 选用 SPF 级近交系 C57BL/6J 背景 5 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠 36 只, 随机分为 3 组, 每组 12 只: (2) ApoE^{-/-} 鼠对照组、(3) 高蛋氨酸组、(4) 干预组, 分别给予正常饮食、正常饮食加 1.7% 蛋氨酸、正常饮食加 1.7% 蛋氨酸加 0.006% 叶酸及 0.0004% 维生素 B₁₂。各组小鼠在 SPF (specific pathogen free) 环境中分笼饲养, 控制室内温度 20~25℃, 相对湿度 60% 左右, 饲养笼具及饮水瓶定期消毒, 使用高压灭菌垫料。所有小鼠喂养 14 周后眼球取血并解剖, 进行后续实验。

1.3 血清 Hcy 及心肌酶谱检测

按照文献 [6] 报道的方法, 取待测血清立即用全自动生物化学分析仪检测血清 Hcy 及心肌酶谱浓度。

1.4 血清氧化型低密度脂蛋白检测

按照氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒说明书操作。

1.5 RT-PCR 检测 ApoE^{-/-} 鼠心脏 P53 mRNA 表达

取各组小鼠心脏组织, 组织匀浆器匀浆, Trizol 提取 RNA。20 μ L 逆转录体系, 逆转录合成 cDNA。通过 Primer 5 软件设计 P53 引物: 上游引物: 5'-TTT-GGTTCCGGCTTTATCAGG-3', 下游引物: 5'-GAG-GACTGCCAGTTCCAAAG-3', 产物长度为 146 bp; 磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) 引物: 上游引物: 5'-GGTGAAG-GTCGGTGTGAACG-3', 下游引物: 5'-CTCGCTG-GAAGATGGTG-3', 产物长度为 186 bp。反应体系为 50 μ L。反应条件为: 95℃ 10 min, 95℃ 15 s, 53℃ 30 s, 72℃ 30 s, 进行 40 个循环。根据目的基因的

相对量 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算结果, $\Delta\Delta Ct = [CtP53(\text{待测样本}) - CtGAPDH(\text{待测样本})] - [CtP53(\text{校正样本}) - CtGAPDH(\text{校正样本})]$ 。

1.6 免疫组织化学法检测心脏 P53 蛋白表达

取心脏组织石蜡切片,脱蜡水化后用 PBS 冲洗,加入一抗在 37℃ 水浴中孵育 1 h,用 PBS 洗涤 3 次,加二抗在 37℃ 水浴中孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次后,再加 DAB 液显色,苏木精复染,常规脱水、透明、封片,镜检。

结果判定:P53 阳性细胞表现为胞核着色,呈棕黄色或黄色。无阳性反应的细胞为阴性反应。通过 ImagePro Plu 6.0 软件分析阳性区域的累积光密度(integral optical density, IOD)和阳性区域面积,计算单位面积光密度。

1.7 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数间比较采用 *t* 检验,多样本均数间比较采用 One-Way ANOVA 检验,组间的两两比较采用 Student-Newman-Keuls 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 Hcy 水平

ApoE^{-/-}鼠对照组、高蛋氨酸组及干预组中 Hcy 均升高,与正常对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其中高蛋氨酸组 Hcy 含量最高($P < 0.01$),为

正常对照组的 3.55 倍,是 ApoE^{-/-}鼠对照组 1.64 倍(图 1)。给予叶酸和维生素 B₁₂ 干预后, Hcy 水平较高蛋氨酸组明显降低(图 1)。

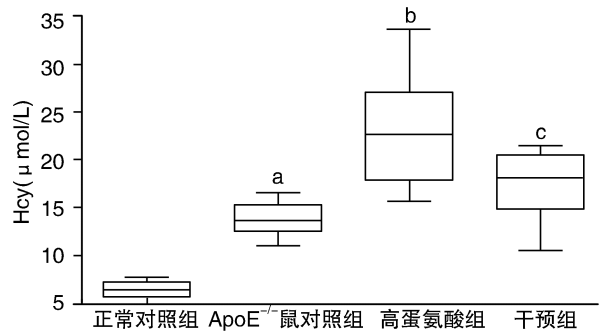


图 1. 小鼠血清 Hcy 含量 a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与高蛋氨酸组比较。

Figure 1. Serum Hcy levels in mice

2.2 血清心肌酶谱的变化

高蛋氨酸组血清心肌酶谱除天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)外,乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、羟丁酸脱氢酶(hydroxy butyrate dehydrogenase, HBDH)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)水平皆较正常对照组明显增高($P < 0.05$; 表 1)。干预组添加叶酸及维生素 B₁₂ 后部分血清心肌酶谱下降, HBDH、CK、CK-MB 含量较高蛋氨酸组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 小鼠血清 CK-MB、CK、HBDH、AST 与 LDH 含量($\bar{x} \pm s$, u/L)

Table 1. Serum CK-MB, CK, HBDH, AST and LDH concentrations ($\bar{x} \pm s$, u/L)

分组	CK-MB	CK	HBDH	AST	LDH
正常对照组	1 036.001 ± 79.220	486.702 ± 38.891	81.332 ± 12.770	155.102 ± 20.780	227.002 ± 62.080
ApoE ^{-/-} 鼠对照组	405.803 ± 72.822	549.001 ± 79.553	142.700 ± 15.794	173.801 ± 31.610	582.443 ± 110.303 ^a
高蛋氨酸组	1 216.012 ± 155.801 ^a	918.205 ± 182.206 ^a	189.301 ± 20.700 ^a	96.582 ± 5.783 ^a	502.212 ± 57.032 ^a
干预组	918.211 ± 147.801 ^b	335.902 ± 30.864 ^c	145.500 ± 16.502 ^b	130.001 ± 27.190 ^b	524.722 ± 57.950 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与高蛋氨酸组比较。

2.3 血清 ox-LDL 水平的变化

与正常对照组比较,高蛋氨酸组血清 ox-LDL 水平升高,饮食中添加叶酸与维生素 B₁₂ 后干预组血清 ox-LDL 含量较高蛋氨酸组降低约 30%, 差异有统计学意义($P < 0.01$; 图 2)。

2.4 小鼠心脏 P53 mRNA 及蛋白表达变化

高蛋氨酸组中 P53 mRNA 表达升高,为正常对照组的 1.75 倍,与正常对照组比较差异有统计学意义

($P < 0.05$; 图 3)。给予叶酸及维生素 B₁₂ 干预后, P53 mRNA 表达较高蛋氨酸组明显降低($P < 0.05$; 图 3)。

正常对照组无 P53 蛋白表达的 心脏组织呈均匀淡紫色, P53 阳性表达细胞核呈深浅不一棕褐色。ImagePro Plu 6.0 软件分析正常对照组、ApoE^{-/-}鼠对照组、高蛋氨酸组、干预组心脏组织切片 P53 蛋白阳性染色区域平均光密度为: 0.29 ± 0.02 、 0.59 ± 0.05 、 0.63 ± 0.04 、 0.46 ± 0.03 ($P < 0.05$; 图 4)。

2.5 P53 表达变化与血清 CK 浓度变化的相关分析

对各组 P53 mRNA 及血清 CK 含量进行相关性分析,发现两者成正相关($r=0.7061, P<0.01$;图 5)。

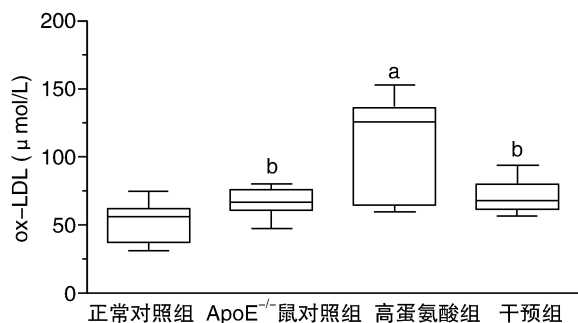


图 2. 小鼠血清 ox-LDL 含量 a 为 $P<0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.01$,与高蛋氨酸组比较。

Figure 2. Serum ox-LDL levels in mice

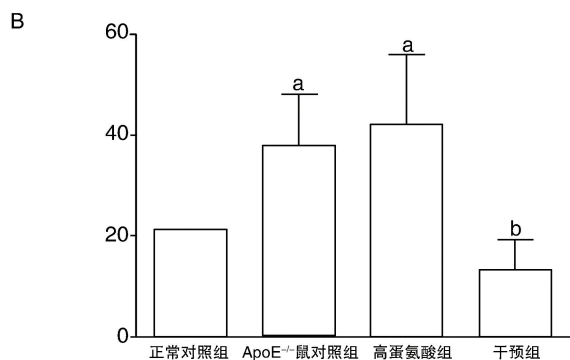
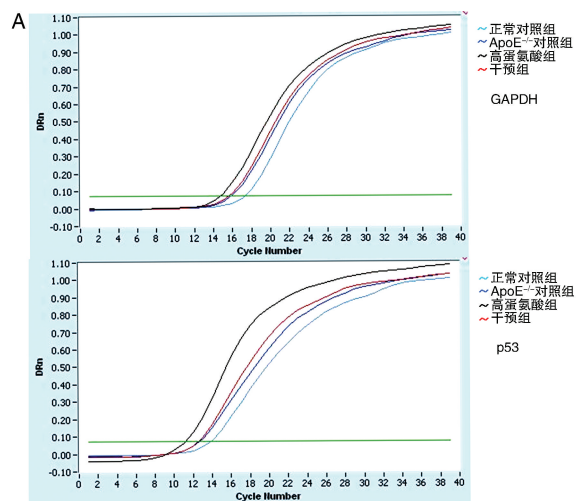


图 3. 小鼠心脏 P53 mRNA 表达 (A) 和 P53 mRNA 表达统计结果 (B) a 为 $P<0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.01$,与高蛋氨酸组比较。

Figure 3. Representative fluorescent real time PCR experiments to assay P53 mRNA expression (A) and statistical analysis of P53 mRNA expression (B)

3 讨论

同型半胱氨酸作为动脉粥样硬化的独立危险因素已为世人所公认^[7],Hcy 诱导的氧化应激被认为是其损伤心血管系统的最重要机制之一^[8]。两个 Hcy 分子的自由巯基(-SH)自氧化形成二硫键时产生两个自由电子,如下式: $2\text{Hcy-SH}\rightarrow\text{Hcy-S-S-Hcy}+2\text{H}^++2\text{e}^-$,后者促进活性氧(reactive oxygen species,ROS)的生成,并氧化 NO 生成过氧亚硝基阴离子(ONOO^-), ONOO^- 亦是一个强毒性的氧化基团。Chang 等^[9]发现,Hcy 呈浓度依赖性促进心肌和平滑肌细胞的 H_2O_2 和 O_2^- 产生;抑制线粒体呼吸控制率和线粒体钙离子的摄取,抑制线粒体超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性,导致 H_2O_2 和 O_2^- 增加;Hcy 还促进电子从呼吸链复合物 II 和 III 部位漏出,并释放还原型细胞色素 C,导致 H_2O_2 和 O_2^- 生成。以上都显示 Hcy 显著的促氧化应激效应,可能造成心肌细胞的直接损伤。本文结果显示,单纯 ApoE^{-/-} 鼠可使血清 Hcy 浓度轻度升高,ApoE^{-/-} 鼠给予高蛋氨酸饮食可以引起 HHcy,血清 ox-LDL 浓度明显升高,心肌酶谱发生显著改变,P53 表达水平明显升高。ApoE 是组成脂蛋白的重要成分,参与受体介导的载脂蛋白清除过程,在脂质代谢中起重要作用,该基因敲除后,可造成脂质紊乱,大量胆固醇类沉积于血管壁,引起动脉粥样硬化的发生^[10]。研究表明,心肌酶谱能反映早期的心肌损伤,其中 CK-MB 可作为心肌损伤的特异和敏感指标^[11]。Inoguchi 等^[12]在兔模型中观察到在动脉粥样硬化进程中,可能伴随心肌功能受损。国内有研究显示,动物体内心肌酶谱水平并不与人体内完全一致,与本实验结果相符,其不同可能由于个体差异所致^[13,14]。叶酸和维生素 B₁₂ 参与 Hcy 的代谢过程,可减少体内 Hcy 的产生^[15]。综上所述,本实验结果表明在 ApoE^{-/-} 背景下,Hcy 的氧化应激效应更明显;同时,高蛋氨酸组血清多种细胞内酶,特别是心肌酶谱浓度升高,提示 Hcy 能造成心肌细胞的损伤;补充叶酸和维生素 B₁₂ 后各项指标都得到了较明显的改善,提示叶酸与维生素 B₁₂ 可缓解 HHcy 所致的心肌损伤。同时,Hcy 还具有明显的促炎效应,使单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)和白细胞介素 8(interleukin-8, IL-8)的表达明显上调^[16],炎症机制亦可能参与对心肌的损伤。本文所显示的 HHcy 的细胞损伤效应是在 ApoE^{-/-} 的基因背景下,表明基因和环境因素共同

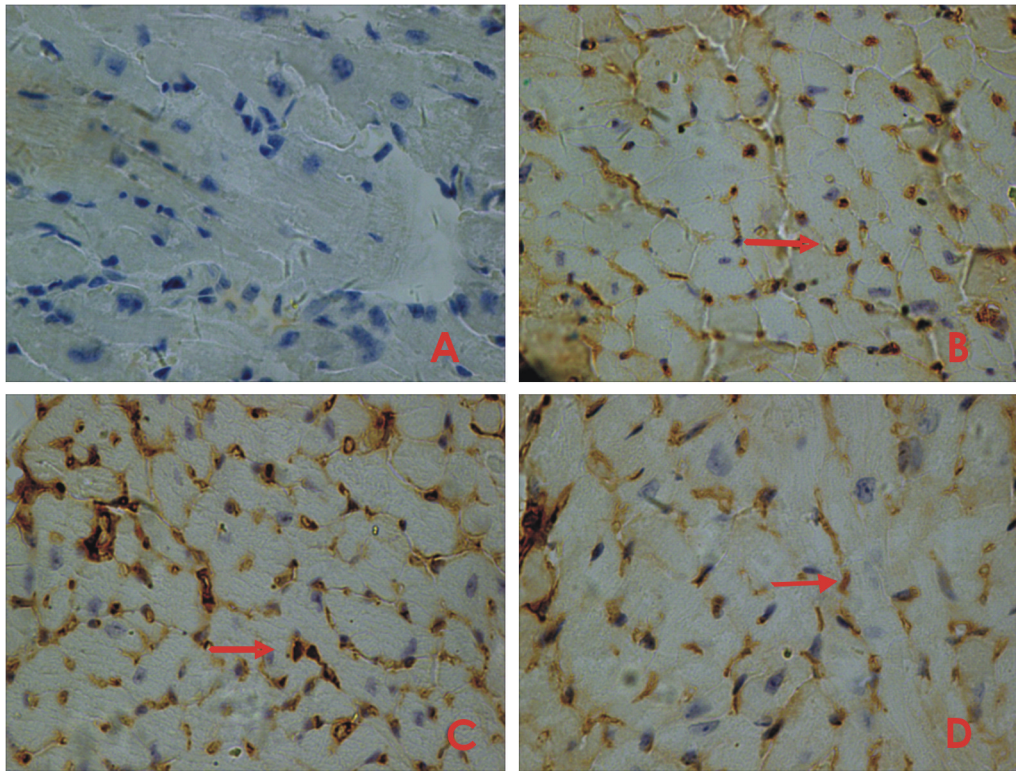


图4. 免疫组织化学法分析心脏组织中 P53 蛋白表达 (10×40) A 为正常对照组, B 为 ApoE^{-/-} 鼠对照组, C 为高蛋氨酸组, D 为干预组。

Figure 4. P53 protein expression by immunohistochemical method (10×40)

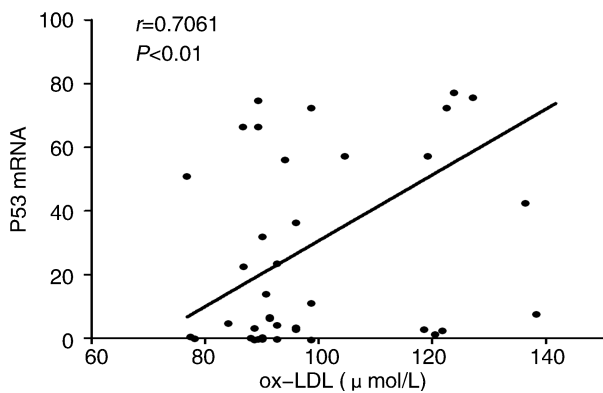


图5. 血清 CK 含量与 P53 mRNA 表达相关性分析

Figure 5. Correlation analysis about serum CK and P53 mRNA

作用的叠加效果,可能有别于单因素的效应,并且提示 Hcy 可能通过氧化应激产生心肌损伤作用。

P53 是一种抑癌基因,参与细胞生长、分化及凋亡的调控^[17]。多种因素诱导的细胞凋亡都有 P53 蛋白的参与。目前认为, P53 的活性受其赖氨酸残基甲基化水平的调控,甲基化的 P53 聚集于核中,且稳定性明显升高,这种高稳定的 P53 诱导细胞周期的停滞和凋亡^[18]。本文结果还显示, HHcy 导致 P53 在 mRNA 水平和蛋白水平的表达均升高。提示

Hcy 可以引起 P53 活性增强。

Iwano 等^[19]发现, P53 基因缺失小鼠 (P53-P2) 中 P53 基因表达沉默易化平滑肌细胞增殖及抗凋亡,从而加速新内膜形成,最终导致动脉粥样硬化的发生。Yan 等^[20]发现使 P53 基因在体外培养的 SD 大鼠心肌细胞中过表达,可抑制心肌细胞的增殖。但在 ApoE^{-/-}背景下, P53 表达升高及促进细胞死亡是否与某些细胞内酶,特别是与血清心肌酶谱的外泄存在关联,尚未见报道。本文结果显示, P53 的表达变化与 CK 的血清浓度变化趋势一致,二者之间存在正相关,提示 Hcy 可能通过 P53 依赖的细胞凋亡途径引起心肌损伤。然而,在 HHcy 时, P53 表达改变的机制、P53 与 CK 之间的作用机制值得进一步探索。

[参考文献]

- [1] Liu WH, Zhao YS, Gao SY, et al. Hepatocyte proliferation during liver regeneration is impaired in mice with methionine diet-induced hyperhomocysteinemia[J]. Am J Pathol, 2010, 177(5): 2 357-365.
- [2] 陈梅玲, 林小慧, 李清华, 等. 动脉粥样硬化性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸水平及亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(9):

- 733-736.
- [3] 巩慧慧, 王菊, 孙炜炜, 等. HHcy 对 ApoE^{-/-} 鼠动脉粥样硬化的影响及叶酸、维生素 B₁₂ 的干预效应[J]. 中国现代医学杂志, 2012, 21(36): 4 493-496.
- [4] Wang S, Song P, Zou MH. Inhibition of AMP-activated protein kinase α (AMPK α) by doxorubicin accentuates genotoxic stress and cell death in mouse embryonic fibroblasts and cardiomyocytes; role of P53 and SIRT1 [J]. J Biol Chem, 2012, 287(11): 8 001-012.
- [5] Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, et al. P53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure [J]. Cell Metab, 2012, 15(1): 51-64.
- [6] 傅蕾蕾. 心肌酶谱检测在急性心肌梗死诊断中的价值[J]. 医学理论与实践, 2012, 25(9): 1 208-209.
- [7] Yilmaz N. Relationship between paraoxonase and homocysteine; crossroads of oxidative diseases[J]. Arch Med Sci, 2012, 8(1): 138-153.
- [8] Lee SJ, Kang MH, Min H. Folic acid supplementation reduces oxidative stress and hepatic toxicity in rats treated chronically with ethanol[J]. Nutr Res Pract, 2011, 5(6): 520-526.
- [9] Chang L, Zhao J, Xu J, et al. Effects of taurine and homocysteine on calcium homeostasis and hydrogen peroxide and superoxide anions in rat myocardial mitochondria[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004, 31(4): 237-243.
- [10] 梁星, 杨丽霞, 郭瑞威, 等. 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子和尿激酶型纤溶酶原激活物在载脂蛋白 E 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化斑块中的表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(8): 673-678.
- [11] Portnichenko AG, Vasilenko MI, Moibenko AA. Hypoxic preconditioning prevents the induction and activation of 5-lipoxygenase during ischemia and reperfusion of rat heart [J]. Fiziol Zh, 2012, 58(4): 21-29.
- [12] Inoguchi T, Li P, Umeda F, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD (P) H oxidase in cultured vascular cells [J]. Diabetes, 2000, 49(11): 1 939-945.
- [13] 王金会, 滕志涛, 赵培勇, 等. 紫杉醇对小鼠心肌及血管内皮细胞凋亡影响的实验研究[J]. 中国心血管病研究, 2008, 6(6): 460-462.
- [14] 赵明宏, 郭涛, 刘玉兰, 等. 麝香保心片对心肌缺血缺氧的保护作用[J]. 解放军药学报, 2003, 19(1): 42-44.
- [15] Taban-Shomal O, Kilter H, Wagner A, et al. The cardiac effects of prolonged vitamin B₁₂ and folate deficiency in rats [J]. Cardiovasc Toxicol, 2009, 9(2): 95-102.
- [16] Yu X, Ling W, Mi M. Relationship of impairment induced by intracellular S-adenosylhomocysteine accumulation with DNA methylation in human umbilical vein endothelial cells treated with 3-deazaadenosine [J]. Int J Exp Pathol, 2009, 90(6): 638-648.
- [17] Vuong L, Conley SM, Al-Ubaidi MR. Expression and role of P53 in the retina [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(3): 1 362-371.
- [18] Xiong J, Liu Y, Wang Y, et al. Chromosome 1p/19q status combined with expression of P53 protein improves the diagnostic and prognostic evaluation of oligodendrogliomas [J]. Chin Med J, 2010, 123(24): 3 566-573.
- [19] Iwano S, Shibahara N, Saito T, et al. Activation of P53 as a causal step for atherosclerosis induced by polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. FEBS Lett, 2006, 580(3): 890-893.
- [20] Yan X, Lv A, Xing Y, et al. Inhibition of P53-P21 pathway promotes the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stemcells into cardiomyocytes [J]. Mol Cell Biochem, 2011, 354(1-2): 21-28.

(此文编辑 曾学清)