

# Effects of the Alkylating Agent Methyl Methanesulfonate on the Cardiovascular System in SD Rats

Tianliang Jiang<sup>1\*</sup>, Tieer Gan<sup>2\*</sup>, Xianrong Xu<sup>1</sup>, Yifei Cao<sup>1</sup>, Hongjuan Li<sup>1</sup>, Jun Yang<sup>1,3#</sup>

<sup>1</sup>Department of Public Health, School of Medicine, Hangzhou Normal University, Hangzhou Zhejiang

<sup>2</sup>Hospital Infection Control Department, Zhejiang Provincial TCM Hospital, Hangzhou Zhejiang

<sup>3</sup>Zhejiang Provincial Center for Uterine Cancer Diagnosis and Therapy Research, The Women's Hospital, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang

Email: #gastate@zju.edu.cn

Received: Jul. 23<sup>rd</sup>, 2019; accepted: Aug. 6<sup>th</sup>, 2019; published: Aug. 13<sup>th</sup>, 2019

## Abstract

**Objective:** To investigate the effects of DNA damage agent methyl mesylate (MMS) on cardiovascular system in Sprague-Dawley (SD) rats. **Methods:** SD rats were intraperitoneally injected with MMS (25 or 60 mg/kg). One day or 3 days later, rats were sacrificed and the following parameters were measured and examined: peripheral blood cell count, blood pressure, heart rate, ultrastructure of the vascular wall, thoracic aorta tension, and platelet aggregation. **Results:** It was found that MMS could significantly decrease the white blood cell counts at both doses compared to controls. On the other hand, heart rate and blood pressure were not affected. In addition, MMS had no effect on the tension in thoracic aorti, and electromicroscopy analysis also revealed no significant damage to the thoracic aortic ultrastructure. Finally, ADP-induced platelet aggregation was evaluated in both MMS-treated and control rats, and the results showed no significant difference between the two groups. **Conclusion:** Taken together, it is suggested that MMS does not have any significant effect on the cardiovascular system in the rat model.

## Keywords

Methylmethanesulfonate, Cardiovascular Toxicity, Vascular Tension, Platelet Aggregation

# 烷化剂甲磺酸甲酯(MMS)对SD大鼠心血管系统的影响

蒋天靓<sup>1\*</sup>, 干铁儿<sup>2\*</sup>, 徐贤荣<sup>1</sup>, 曹亦菲<sup>1</sup>, 李红娟<sup>1</sup>, 杨军<sup>1,3#</sup>

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 蒋天靓, 干铁儿, 徐贤荣, 曹亦菲, 李红娟, 杨军. 烷化剂甲磺酸甲酯(MMS)对SD大鼠心血管系统的影响[J]. 生理学研究, 2019, 7(3): 17-24. DOI: 10.12677/jps.2019.73004

<sup>1</sup>杭州师范大学医学院预防医学系, 浙江 杭州

<sup>2</sup>浙江省中医院院感科, 浙江 杭州

<sup>3</sup>浙江大学医学院附属妇产科医院子宫癌诊疗中心, 浙江 杭州

Email: #gastate@zju.edu.cn

收稿日期: 2019年7月23日; 录用日期: 2019年8月6日; 发布日期: 2019年8月13日

## 摘要

**目的:** 探讨DNA损伤剂甲磺酸甲酯(MMS)对SD大鼠心血管系统的影响。**方法:** 采用腹腔注射方式给予SD大鼠甲基磺酸甲酯(25 mg/kg或60mg/kg)。经1天或3天后处死大鼠, 并检测以下指标: 外周血细胞数, 血压, 心率, 血管壁超微结构, 胸主动脉张力以及血小板聚集情况。**结果:** 研究显示, 与对照组相比, 在两个剂量组中MMS均能够显著减少外周血白细胞数量; 但是心率和血压则不受影响。此外, MMS对胸主动脉张力没有影响, 电镜分析也发现其对胸主动脉血管壁超微结构没有损伤。最后, 对对照组和MMS处理组进行ADP诱导的血小板聚集反应分析发现, 两组之间差异无统计学显著性。**结论:** 综上所述, 不同于MMS的遗传毒性特征, 其对SD大鼠的心血管系统无明显毒性。

## 关键词

甲磺酸甲酯, 心血管毒性, 血管张力, 血小板聚集

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

遗传毒性物质甲磺酸甲酯(methyl methanesulfate, MMS)是经典的DNA烷化剂, 能诱导碱基中的嘌呤甲基化, 从而导致碱基的错配和DNA复制障碍, 最终造成基因突变或染色体畸变[1] [2]。MMS作为典型的DNA损伤剂, 是生物医学实验室广泛应用的直接遗传毒物, 曾一度在酵母研究被用为拟放射性物质及姐妹染色单体交换诱导剂[3], 还被作为聚合、烷化和酯化反应的催化剂和化疗药物而广泛应用[4]。MMS的体内水解产物甲磺酸(methanesulfonic acid)亦可作为可逆的昆虫杀虫剂及男性避孕药[5]。

目前对MMS的研究主要集中在DNA的损伤修复以及其遗传毒性效应对生殖器官损伤和对肿瘤形成的影响[3] [6] [7] [8]。大量的流行病学及实验室研究发现很多遗传毒性物质是诱导心血管疾病发生发展的重要因素, 如多环芳烃类的苯并芘[benzo(a)pyrene, BaP], 化疗药物顺铂(cisplatin)等[9]-[14]。同样是遗传毒性物质的MMS是否也同样会引起心血管系统的损伤呢? 目前为止相关研究甚少。所以本研究的目的是从血压, 心率, 血管舒缩及血小板聚集功能的变化等多方面来探讨MMS对SD大鼠心血管系统造成的影响。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

#### 2.1.1. 药品与试剂

甲磺酸甲酯(methyl methanesulfonate, MMS)、去氧肾上腺素(phenylephrine, PE)、乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)、二磷酸腺苷(ADP)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)均购自美国Sigma公司(Saint Louis, MO, USA)。

其余试剂均为市售级分析纯购自国药集团化学试剂有限公司(上海, 中国)。

### 2.1.2. 实验动物

清洁级♂ Sprague-Dawley (SD)大鼠购自浙江省实验动物中心, 体重 200~250 g, 合格证号: SCXK(浙)20080033。大鼠在适应性喂养一周后, 以生理盐水作空白对照, 一次性腹腔注射甲磺酸甲酯(MMS 高剂量组 60 mg/kg, 低剂量组 25 mg/kg), 分别染毒 1 天和 3 天。此外, 于染毒前后, 分别测定各组大鼠的体重变化。

### 2.1.3. 实验仪器

ADVIA2120 血液分析仪, 德国拜耳公司; BP98A 大鼠无创血压仪, 日本东京软隆公司; 离体血管环灌流装置、MedLab v5.0 生物信号采集系统, 南京美易科技公司; CHORNO-LOG 血小板聚集分析仪, 美国 Chrono-Log 公司。

## 2.2. 方法

### 2.2.1. SD 大鼠胸主动脉张力的测定

各剂量组和对照组的 SD 大鼠用 10%水合氯醛 0.4 ml/100g 腹腔注射麻醉, 放血处死后打开胸腔, 迅速游离胸主动脉, 置于 4℃ 含 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 混合气体预饱和的 K-H 液中[mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 120.0; KCl 4.5; CaCl<sub>2</sub> 1.25; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2; MgSO<sub>4</sub> 1.2; NaHCO<sub>3</sub> 25.0; 葡萄糖 10.0 (pH 7.4)], 小心剔除周围结缔组织, 剪成 3~4 mm 的血管环。将血管环悬挂于预置 5 mL K-H 液的离体血管环灌流装置中。血管环两端分别连接张力换能器和浴槽底部的不锈钢丝, 使用 Medlabv5.0 生物信号采集系统记录[15] [16]。血管环在基础张力为 2.0 g 的状态下稳定 60 min, 每 15 min 换 K-H 液 1 次。先后用累积终浓度为 10, 20, 30, 40, 50, 60 mmol·L<sup>-1</sup> 的 KCl 和累积终浓度为 10<sup>-9</sup>~10<sup>-4</sup> mol·L<sup>-1</sup> 的 PE 刺激血管环收缩来检测血管的收缩功能。用 10<sup>-6</sup> M·L<sup>-1</sup> 的 PE 收缩血管环达峰值, 再加入累积终浓度为 10<sup>-3</sup>~10<sup>-8</sup> mol·L<sup>-1</sup> 的 ACh 舒张血管环来检测血管内皮依赖性的血管舒张功能。

### 2.2.2. 血管超薄切片制备及电镜观察

固定: 将上述剔除干净外周结缔组织的血管环置于 2.5%的戊二醛中浸泡固定过夜, 用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)漂洗两次, 每次 15 min。再用 1%锇酸固定液固定 1 h。固定完毕, 用 PBS 漂洗两次, 每次 15 min。脱水: 用 2%醋酸铀水溶液染色 30 min, 然后分别用乙醇和丙酮进行梯度脱水: 50%乙醇 15 min, 70%乙醇 15 min, 90%乙醇 15 min, 95%乙醇 15 min, 100%乙醇 20 min, 100%丙酮脱水 20 min (两次)。渗透: 向样品中加入丙酮:包埋液(环氧树脂) = 1:1 的包埋液, 恒温振荡 2 h。包埋: 将血管环用纯包埋剂, 环氧树脂包埋, 恒温振荡 1.5~2 h, 然后置 37℃ 烤箱 24 h 烘干, 在 45℃ (24 h), 60℃ (48 h)烤箱内聚合硬化。利用超薄切片机切下厚度约为 120 nm 的切片, 将制备的片子干燥后先经 4%醋酸铀染色 20 min, 再用枸橼酸铅染色 5 min, 在 TECNAI 10 透射电镜下观察。

### 2.2.3. 血小板聚集实验

通过下腔静脉取血, 每只大鼠约取 6 ml, 用 PH = 6.5 的柠檬酸葡萄糖(ACD)抗凝(血液:抗凝剂 = 6:1)。150 g·min<sup>-1</sup>, 常温离心 20 min, 轻轻吸取上层的澄清富血小板血浆(PRP)。剩余血以 800 g·min<sup>-1</sup> 离心 20 min 分离出贫血小板血浆(PPP), 用 PPP 稀释 PRP 调节血小板计数为 250~300 × 10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup>。然后, 吸取 250 ul 稀释后的 PRP 置入聚集管, 并放入干净磁珠和 5 ul 100 mmol·L<sup>-1</sup> D 的 CaCl<sub>2</sub> 于孵育孔道内 37℃ 孵育 2 min, 置入测试孔道, 调零后, 加入 5ul 100 μmol·L<sup>-1</sup> 的 ADP, 观察聚集率的变化, 观察 5 min。

### 2.2.4. 统计处理

实验结果以  $\bar{x} \pm s$  形式表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用 ANOVA 和 Dunnett's *t* 检验法进行显著性分析(SAS9.1 统计软件), 检验水准为  $P < 0.05$ 。

## 3. 结果

### 3.1. MMS 对 SD 大鼠体重, 血压, 心率及外周血细胞的影响

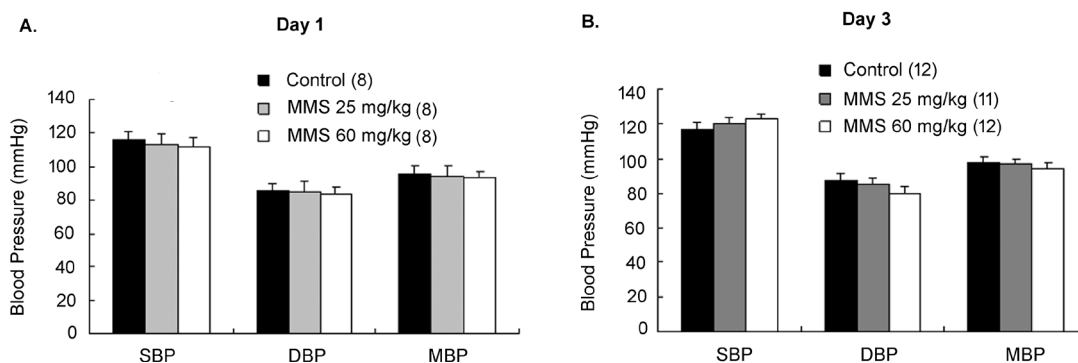
一次性腹腔注射 MMS 后 1 天, 高剂量组 60 mg/kg SD 大鼠的体重增量仅为  $4.4 \pm 1.6$  g, 低剂量组 25 mg/kg SD 大鼠的体重增量为  $17.9 \pm 2.2$  g, 相对对照组  $18.7 \pm 1.8$  g 均有降低, 尤其是高剂量组的降低显著, 降低了 76.5%,  $P < 0.01$ (表 1)。两处理组大鼠的血压(图 1)和心率(数据没显示)跟对照组比没有变化, 外周血白细胞计数相比对照组从  $10.4 \pm 0.63 \times 10^9 \cdot L^{-1}$  降到  $8.0 \pm 0.54 \times 10^9 \cdot L^{-1}$  (25 mg/ml)和  $5.2 \pm 0.83 \times 10^9 \cdot L^{-1}$  (60 mg/ml),  $P < 0.01$ , 其中以淋巴细胞和中性粒细胞计数降低最为明显(表 2)。红细胞和血小板计数跟对照比没有变化。一次性腹腔注射 MMS 后 3 天, 高剂量组体重增量为  $29.9 \pm 1.3$  g, 相对对照组  $38.6 \pm 1.5$  g 有显著性差异, 向降了 22.5%,  $P < 0.01$  (表 1), 而低剂量组体重增加值跟对照组虽减少, 但无统计学差异。两处理组大鼠的血压(图 1)和心率(数据没显示)变化跟对照组比仍无差异, 而外周血细胞计数变化跟染毒一天后相似(数据没有显示)。

**Table 1.** The weight gain of SD rats in each group (g)

**表 1.** 各剂量组的 SD 大鼠体重增加量(g)

Time	Control (n)	25 mg/kg (n)	60 mg/kg (n)
1 day	$18.7 \pm 1.8$ (14)	$17.9 \pm 2.2$ (8)	$4.4 \pm 1.6^{**}$ (14)
3 days	$38.6 \pm 1.5$ (7)	$33.5 \pm 5.7$ (7)	$29.9 \pm 1.3^{**}$ (7)

$\bar{x} \pm s$ , \*\* $P < 0.01$ , compared with control.



**Figure 1.** Systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and mean arterial blood pressure (MBP) of B<sub>6</sub>P-treated and vehicle-treated rats

**图 1.** 各剂量组 SD 大鼠的收缩压(SBP), 舒张压(DBP), 平均压(MBP)变化

**Table 2.** Analysis of peripheral blood cells in SD rats 1 day after treated with MMS ( $10^9 \cdot L^{-1}$ )

**表 2.** SD 大鼠染毒 1 天后外周血细胞计数( $10^9 \cdot L^{-1}$ )

Cells	Control (n=8)	25 mg/kg (n=8)	60 mg/kg (n=8)
白细胞	$10.4 \pm 0.63$	$8.0 \pm 0.54^{**}$	$5.2 \pm 0.83^{**}$
中性粒细胞	$1.3 \pm 0.12$	$1.2 \pm 0.20$	$0.7 \pm 0.07^*$
淋巴细胞	$8.5 \pm 0.53$	$6.3 \pm 0.46^{**}$	$3.9 \pm 0.84^{**}$

Continued

单核细胞	0.42 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.45 ± 0.06
红细胞	6285 ± 115	6165 ± 161	6423 ± 74
血小板	1068 ± 114	1210 ± 49	1073 ± 121

$\bar{x} \pm s$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , compared with control.

### 3.2. MMS 对 SD 大鼠胸主动脉舒缩及其超微结构的影响

KCl 和 PE 是经典的诱导血管收缩的刺激剂。MMS 染毒后第 1 天, 累积浓度为  $10 \sim 60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 KCl 在对照组中诱导血管收缩幅度为  $0.11 \pm 0.06 \sim 0.96 \pm 0.08 \text{ g}$ ; KCl 诱导低剂量组(25 mg/kg)SD 大鼠胸主动脉收缩的幅度为  $0.12 \pm 0.02 \sim 0.98 \pm 0.10 \text{ g}$ , 高剂量组(60 mg/kg)为  $0.25 \pm 0.09 \sim 0.94 \pm 0.10 \text{ g}$  (图 2(A)~(C))。两处理组跟对照组相比, 血管张力无变化。累计浓度为  $10^{-9} \sim 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 PE 在对照组中诱导血管收缩的幅度为  $0.05 \pm 0.01 \sim 0.44 \pm 0.10 \text{ g}$ ; PE 诱导低剂量组 SD 大鼠胸主动脉收缩的幅度为  $0.05 \pm 0.01 \sim 0.38 \pm 0.06 \text{ g}$ , 高剂量组为  $0.05 \pm 0.01 \sim 0.39 \pm 0.07 \text{ g}$  (图 2(A)~(C)), 跟对照相比亦无差异。累积浓度为  $10^{-3} \sim 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Ach 在对照组中诱导经 PE 预收缩的血管环舒张比为  $0.11 \pm 0.02 \sim 1.00 \pm 0.03$ ; 在低剂量组为  $0.11 \pm 0.02 \sim 0.99 \pm 0.06$ ; 在高剂量组为  $0.08 \pm 0.01 \sim 1.00 \pm 0.07$ , 处理组跟对照组比较也均无差异。MMS 染毒后第 3 天的血管张力变化与染毒 1 天的相似(图 2(D)~(F))。电镜观察 SD 大鼠胸主动脉壁超微结构显示(图 3): 两处理组中, 无论是血管平滑肌细胞的排列方式, 单位面积的平滑肌细胞计数(表 3)及细胞间的间隙还是线粒体和肌浆网等细胞器跟对照组相比无异常。

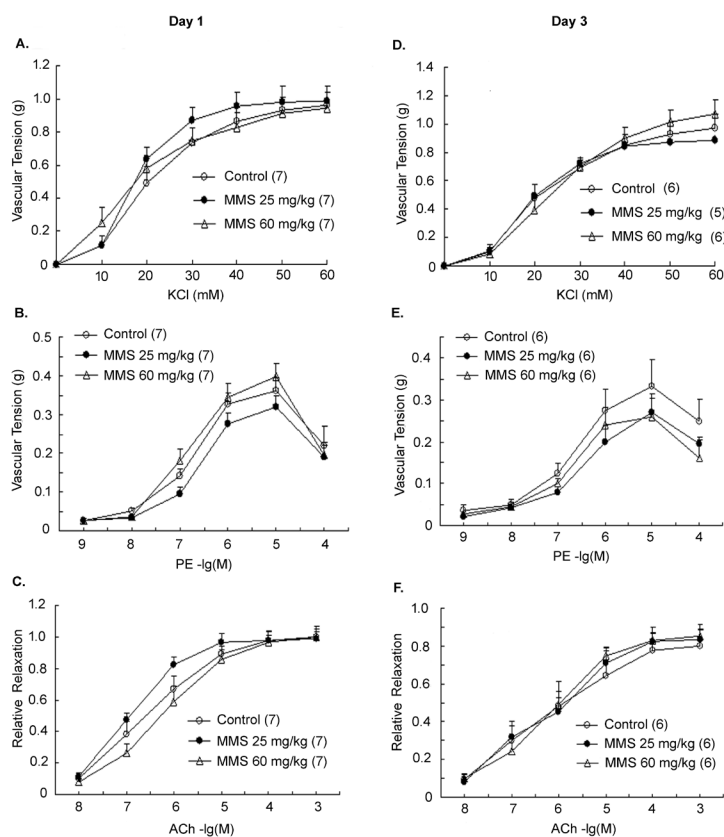
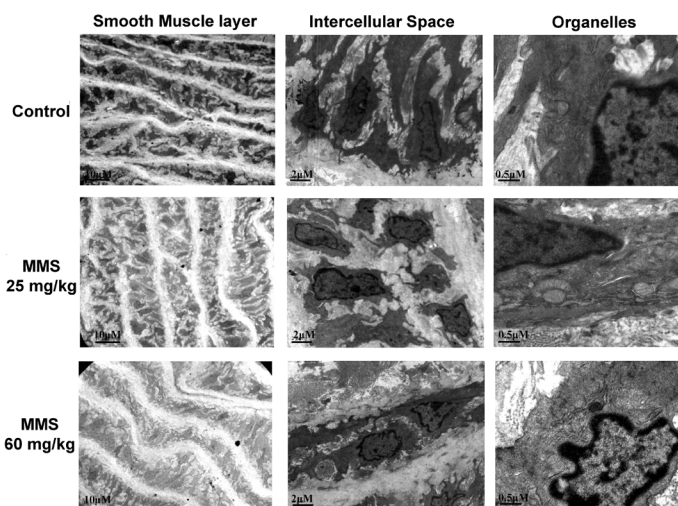


Figure 2. The effect of MMS on thoracic aortic tension of SD rats

图 2. MMS 对 SD 大鼠胸主动脉血管张力的影响



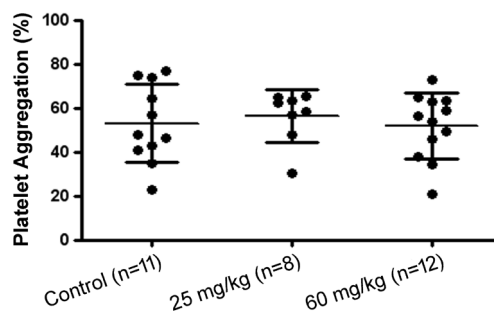
**Figure 3.** The effect of MMS on thoracic aortic ultrastructure of SD rats  
**图 3.** MMS 对 SD 大鼠胸主动脉壁超微结构的影响

**Table 3.** The effect of MMS on smooth muscle cell count ( $\text{mm}^{-2}$ )  
**表 3.** MMS 对血管平滑肌细胞计数的影响( $\text{mm}^{-2}$ )

	Control ( $n = 6$ )	25 mg/kg ( $n = 6$ )	60 mg/kg ( $n = 6$ )
<b>Count</b>	20,968 $\pm$ 1229	23,958 $\pm$ 1094	18,515 $\pm$ 1976

### 3.3. MMS 对 SD 大鼠血小板聚集功能的影响

ADP 是经典的刺激血小板聚集的诱导剂之一。ADP 刺激对照组血小板聚集的聚集率是  $53.0\% \pm 5.4\%$ ，低剂量组血小板的聚集率是  $56.3\% \pm 4.2\%$ ，高剂量组血小板的聚集率是  $51.9\% \pm 4.3\%$ ，三组比较均无统计学差异， $P > 0.05$  (图 4)。MMS 染毒 1 天，对血小板聚集功能不会产生影响。



**Figure 4.** The effect of MMS on ADP induced platelet aggregation of SD rats  
**图 4.** MMS 对 SD 大鼠 ADP 诱导的血小板聚集的影响

## 4. 讨论

由表 1 可知，MMS 染毒后 1 至 3 天，SD 大鼠的体重显著下降，其中染毒后第 3 天的体重增长量相比第 1 天有所回升，说明 MMS 在体内代谢较快，SD 大鼠能在较短时间内代偿 MMS 对机体造成的损伤。Cumming, R. B. 等在小鼠实验中发现，MMS 腹腔注射后很快被消化道吸收，并快速分布于肝、肾、肺、脾、心脏、附睾、大脑、睾丸、心脏及平滑肌，24 小时后这些脏器中 MMS 的浓度显著下降[17]，这进一步支持了本实验研究结果。另外，MMS 严重降低了外周血白细胞的数量(表 2)，这可能是 MMS 对外

周血炎症细胞的细胞毒性所致[18], 因为有大量文献报道 MMS 能诱导外周血淋巴细胞遗传物质的改变从而导致细胞凋亡[19] [20]。然而, MMS 并没有改变 SD 大鼠的血压(图 1), 这表明 MMS 的急性毒性对血管壁张力及血流动力学可能无影响。

由图 2 可知, MMS 对 KCl 和 PE 诱导的血管收缩及 ACh 诱导的内皮依赖血管舒张无影响, 这提示 MMS 在体内的急性毒性并不会干扰血管平滑肌正常的舒缩功能。同时图 3 的电镜图片显示, MMS 无论对血管壁的超微结构还是对平滑肌细胞的数量都没有损伤, 这进一步说明 MMS 的急性毒性可能不会对平滑肌的舒缩功能产生影响。此结果也进一步支持了 MMS 可能不会导致血压的变化, 与图 1 的结果相吻合。

鉴于心血管系统是个复杂而完整的系统, 本研究除了检测 MMS 对血管舒缩, 血压, 心率及外周血细胞的检测之外, 还观察了 MMS 对血栓形成的影响。因为在血栓形成过程中, 血小板激活聚集起了至关重要的作用[21], 所以本实验采用 ADP 诱导血小板聚集的方法来观察 MMS 是否会对血小板聚集功能产生影响, 从而初步探讨 MMS 在机体血栓形成中的作用。由图 4 可知, MMS 处理后的大鼠血小板聚集率与对照组相比并无明显差异, 提示急性染毒 MMS 不会对 ADP 诱导的血小板聚集产生影响, 进一步可以推断 MMS 可能不会促进 SD 大鼠血栓的形成。其可能原因为 MMS 作为经典的 DNA 损伤剂, 主要以 DNA 为作用靶点, 而血小板缺乏 DNA, 受到的影响可能较小。

本研究存在一定的不足和局限性。首先, 本次试验为探索性研究, 观察时间较短, 无法评价 MMS 对 SD 大鼠心血管系统中远期的影响。此外, 由于未观察到显著的毒作用, 对 MMS 影响 SD 大鼠心血管系统的潜在分子机制未能进行深入研究。因此, 在将来的研究中, 需要增加观察时间, 充分评价 MMS 对 SD 大鼠心血管系统的影响及可能的分子机制。

综上所述, 虽然 MMS 是公认的遗传毒性物质, 能损伤多器官多细胞的遗传物质, 从而导致细胞坏死或凋亡, 严重影响该器官的生理结构和功能, 但 MMS 的急性毒性并不会改变大鼠的血压, 心率, 血管张力及血小板聚集功能, 即 MMS 对心血管系统的正常功能并没有明显影响, 这可能跟其在体内的快速代谢相关。

## 基金项目

国家自然科学基金青年基金(81602795); 浙江省自然科学基金(LZ19H260001, LQ15H26002, LY19H260002)。

## 参考文献

- [1] Lundin, C., North, M., Erixon, K., *et al.* (2005) Methyl Methanesulfonate (MMS) Produces Heat-Labile DNA Damage but No Detectable *in Vivo* DNA Double-Strand Breaks. *Nucleic Acids Research*, **33**, 3799-3811. <https://doi.org/10.1093/nar/gki681>
- [2] Beranek, D.T. (1990) Distribution of Methyl and Ethyl Adducts Following Alkylation with Monofunctional Alkylating Agents. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **231**, 11-30. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(90\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0027-5107(90)90173-2)
- [3] Wyatt, M.D. and Pittman, D.L. (2006) Methylating Agents and DNA Repair Responses: Methylated Bases and Sources of Strand Breaks. *Chemical Research in Toxicology*, **19**, 1580-1594. <https://doi.org/10.1021/tx060164e>
- [4] HSDB (2009) Hazardous Substances Data Base. National Library of Medicine. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- [5] Guha, N., Guyton, K.Z., Loomis, D. and Kumar Barupal, D. (2016) Prioritizing Chemicals for Risk Assessment Using Chemoinformatics: Examples from the IARC Monographs on Pesticides. *Environmental Health Perspectives*, **124**, 1823-1829. <https://doi.org/10.1289/EHP186>
- [6] Kleihues, P., Mende, C. and Reucher, W. (1972) Tumours of the Peripheral and Central Nervous System Induced in BD-Rats by Prenatal Application of Methyl Methanesulfonate. *European Journal of Cancer*, **8**, 641-645.

- [https://doi.org/10.1016/0014-2964\(72\)90146-6](https://doi.org/10.1016/0014-2964(72)90146-6)
- [7] Horton, J.K. and Wilson, S.H. (2007) Hypersensitivity Phenotypes Associated with Genetic and Synthetic Inhibitor-Induced Base Excision Repair Deficiency. *DNA Repair*, **6**, 530-543. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2006.10.016>
- [8] Margulies, C.M., Chaim, I.A., Mazumder, A., et al. (2017) Alkylation Induced Cerebellar Degeneration Dependent on Aag and Parp1 Does Not Occur Via Previously Established Cell Death Mechanisms. *PLoS ONE*, **12**, e0184619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184619>
- [9] Vaughn, D.J., Palmer, S.C., Carver, J.R., Jacobs, L.A. and Mohler, E.R. (2008) Cardiovascular Risk in Long-Term Survivors of Testicular Cancer. *Cancer*, **112**, 1949-1953. <https://doi.org/10.1002/cncr.23389>
- [10] De Flora, S. and Izzotti, A. (2007) Mutagenesis and Cardiovascular Diseases Molecular Mechanisms, Risk Factors, and Protective Factors. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **621**, 5-17. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.12.008>
- [11] Curfs, D.M., Lutgens, E., Gijbels, M.J., et al. (2004) Chronic Exposure to the Carcinogenic Compound Benzo[a]Pyrene Induces Larger and Phenotypically Different Atherosclerotic Plaques in ApoE-Knockout Mice. *The American Journal of Pathology*, **164**, 101-108. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63101-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63101-X)
- [12] Huddart, R.A., Norman, A., Shahidi, M., et al. (2003) Cardiovascular Disease as a Long-Term Complication of Treatment for Testicular Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **21**, 1513-1523. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.04.173>
- [13] Huang, M., Jiao, J., Wang, J., Xia, Z. and Zhang, Y. (2017) Exposure to Acrylamide Induces Cardiac Developmental Toxicity in Zebrafish during Cardiogenesis. *Environmental Pollution*, **234**, 656-666. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.095>
- [14] Albert, R.E., Vanderlaan, M., Burns, F.J. and Nishizumi, M. (1977) Effect of Carcinogens on Chicken Atherosclerosis. *Cancer Research*, **37**, 2232-2235.
- [15] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [16] 雀苏云, 楼一层, 侯靖. 复方夏枯草活性部位对离体大鼠胸主动脉的舒张作用及机制研究[J]. 中国药师, 2015(6): 884-887.
- [17] Monroe, T.J. and Mitchell, M.A. (1993) *In Vivo* Mutagenesis Induced by CC-1065 and Adozelesin DNA Alkylation in a Transgenic Mouse Model. *Cancer Research*, **53**, 5690-5696.
- [18] Tsuyoshi, T., Takeuchi, M., Hirono, H. and Masamoto, Y. (1989) Micronucleus Test with Methyl Methanesulfonate Administered by Intraperitoneal Injection and Oral Gavage. *Mutation Research*, **223**, 383-386. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(89\)90091-8](https://doi.org/10.1016/0165-1218(89)90091-8)
- [19] Ryk, C., Routledge, M.N., Allan, J.M., et al. (2008) Influence of DNA Repair Gene Polymorphisms on the Initial Repair of MMS-Induced DNA Damage in Human Lymphocytes as Measured by the Alkaline Comet Assay. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **49**, 669-675. <https://doi.org/10.1002/em.20415>
- [20] Habas, K., Najafzadeh, M., Baumgartner, A., Brinkworth, M.H. and Anderson, D. (2017) An Evaluation of DNA Damage in Human Lymphocytes and Sperm Exposed to Methyl Methanesulfonate Involving the Regulation Pathways Associated with Apoptosis. *Chemosphere*, **185**, 709-716. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.014>
- [21] Quinn, M. and Fitzgerald, D. (2005) Platelet Function, Assessment, Diagnosis and Treatment. Humana Press, Totowa, NJ, 3-21.

### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页: <http://cnki.net/>, 点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”, 跳转至: <http://scholar.cnki.net/new>, 搜索框内直接输入文章标题, 即可查询; 或点击“高级检索”, 下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2330-1589, 即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版: <http://www.cnki.net/old/>, 左侧选择“国际文献总库”进入, 搜索框直接输入文章标题, 即可查询。

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [jps@hanspub.org](mailto:jps@hanspub.org)