

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.13.001

文章编号: 1005-8982 (2019) 13-0001-06

基础研究·论著

硫化氢对自发性高血压大鼠心肌重构的作用及机制研究*

张晓景¹, 王童¹, 孔繁秀¹, 刘宇航¹, 陈宇鑫¹, 张亮¹, 李玲², 司军强¹

[石河子大学医学院 1. 生理教研室(新疆地方与民族高发病教育部重点实验室),
2. 医学教学实验中心, 新疆 石河子 832000]

摘要: 目的 探讨硫化氢 H₂S 对自发性高血压大鼠 (SHR) 间隙连接蛋白 40 (Cx40)、43 (Cx43) 表达的调控作用, 以及与心肌重构的关系。**方法** 取 8 周龄雄性 SHR 16 只, 随机分为 SHR 对照组 ($n=8$)、SHR+ 硫化氢钠 NaHS 组 ($n=8$); 取同周龄的正常 Wistar 京都 (WKY) 雄性大鼠 8 只, 设为 WKY 组。SHR+ NaHS 组腹腔注射 NaHS 56 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, SHR 对照组和 WKY 组每日腹腔注射等量生理盐水, 持续 8 周。用分光光度计检测各组大鼠外周血和心肌组织中 H₂S 含量; 通过 HE 染色及 Masson 三色染色观察 H₂S 对心肌的病理学改变; 通过免疫组织化学检测 3 组大鼠心脏组织中 Cx40、Cx43 表达位置的变化; 运用 Western blotting 检测 3 组大鼠心脏组织中 Cx40、Cx43 及 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、骨桥蛋白 (OPN) 表达量的变化。**结果** 与 WKY 组大鼠比较, SHR 组大鼠外周血及心肌组织中 H₂S 含量减少 ($P<0.05$), NaHS 干预后 SHR 外周血及心肌组织中 H₂S 含量增加 ($P<0.05$); 与 WKY 组大鼠比较, SHR 组大鼠心肌纤维结构排列较为紊乱, NaHS 干预后 SHR 心肌纤维排列较为整齐; SHR 组大鼠心肌中的 Cx40、Cx43 表达增加且分布紊乱, SHR+NaHS 组大鼠心肌中的 Cx40、Cx43 分布较规整; 且 SHR 组大鼠心肌中 Cx40、Cx43、 α -SMA、OPN 表达升高 ($P<0.05$), SHR+NaHS 组大鼠心肌中 Cx40、Cx43、 α -SMA、OPN 表达降低 ($P<0.05$)。**结论** H₂S 可能通过调控 Cx40、Cx43 的表达来改善 SHR 心肌重构。

关键词: 心肌重构; 大鼠, 近交 SHR; 硫化氢; 连接蛋白类

中图分类号: R541

文献标识码: A

Effect of H₂S on myocardial remodeling in rat model of SHR*

Xiao-jing Zhang¹, Tong Wang¹, Fan-xiu Kong¹, Yu-hang Liu¹,

Yu-xin Chen¹, Liang Zhang¹, Ling Li², Jun-qiang Si¹

(1. Department of Physiology, 2. Medical Teaching and Experimental Center, Shihezi University School of Medicine, Shihezi, Xinjiang, 832000 China)

Abstract: Objective To explore the effect of hydrogen sulfide (H₂S) on myocardial remodeling in rat model of spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods** Sixteen 8-week-old male rats were randomly divided into three groups ($n=8$): normal control group, SHR group, and SHR + NaHS group. Rats in SHR+ NaHS group were intraperitoneally injected with sodium sulfide on daily basis (56 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) for 8 weeks, while normal saline were administered in SHR group and WKY group. The content of H₂S in peripheral blood and myocardium of rats in each group was determined by spectrophotometry. Pathological changes of myocardium were observed by hematoxylin eosin (HE) staining and Masson trichrome staining. Immunohistochemistry was used to detect the expression of

收稿日期: 2019-01-03

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81560081, No: 81600325); 国家级大学生创新创业训练计划 (No: 201810759025)

[通信作者] 司军强, Tel: 0993-2057137; E-mail: sijunqiang@shz.edu.cn

gap junction protein 40, 43 (Cx40, Cx43) in the three groups. Western blotting was used to detect the expression of Cx40, Cx43, smooth muscle actin (α -SMA) and osteopontin (OPN). **Results** Compared with WKY rats, the content of H_2S in peripheral blood and myocardium of SHR group decreased ($P < 0.05$), which was restored with treatment of NaHS ($P < 0.05$). Compared with the WKY group, rats in SHR group experienced disordered myocardial fiber structure, which were normalized with NaHS intervention. IHC results showed that the expression of Cx40, Cx43 in myocardium of SHR group was increased though distributed disorderly. The distribution of Cx40, Cx43 in myocardium of SHR + NaHS group is more regular than that of SHR group. Western blotting analysis showed that the expression of Cx40, Cx43, α -SMA, OPN in SHR group was increased when compared with those in WKY group ($P < 0.05$), which was reversed in SHR+NaHS group ($P < 0.05$). **Conclusions** H_2S may reverse SHR induced myocardial remodeling through mediation of Cx40 and Cx43.

Key words: myocardial remodeling; rats, inbred SHR; hydrogen sulfide; connexins

心脏作为高血压直接损伤的靶器官之一,最显著的特征性病理变化是心肌肥厚,以左心室肥厚最为明显^[1]。高血压所致的心室壁增厚和心室几何构型改变称为高血压心肌重构。自发性高血压大鼠(spontaneous hypertensive rat, SHR)的肥厚心肌中间隙连接蛋白43(connexin 43, Cx43)表达上调且分布紊乱^[2]。硫化氢 H_2S 可改善由亚硝基左旋精氨酸甲酯(1-nitro-arginine methyl ester, L-NAME)诱导的高血压性心脏病^[3],可抑制肾血管性高血压大鼠的心肌重构^[4],还可以抑制大鼠因高盐饮食导致的心肌肥厚^[5]。然而 H_2S 是否通过间隙连接蛋白影响心肌重构的研究甚少,因此,本文以SHR为研究对象,应用分光光度计检测硫化氢NaHS对外周血及心肌组织中内源性 H_2S 含量的影响,应用苏木精-伊红(Hematoxylin-eosin, HE)染色及马松(Masson)三色染色观察心肌重构情况,通过免疫组织化学检测 H_2S 对间隙连接蛋白40(Connexin 40, Cx40)、Cx43表达的影响;通过Western blotting检测 H_2S 对Cx40、Cx43及 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)表达的调节作用,由此来探讨 H_2S 对心肌重构的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取8周龄SHR雄鼠16只和同龄Wistar京都(Wistar-Kyoto, WKY)雄鼠8只,清洁级,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[动物合格证号:SCXK(京)2016-0006],动物适应饲养1周后进入实验,动物房室内温度为20~25℃,湿度为50%~55%。大鼠分笼喂养,给予标准饲料,自由进食水,环境安静。

1.2 主要试剂

NaHS(美国索莱宝公司), H_2S 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),Masson三色染色试剂盒、HE试剂盒(北京索莱宝公司),Cx43抗体、OPN抗体(英国Abcam公司),Cx40抗体、 α -SMA抗体(美国Bioworld公司)。

1.3 主要仪器

全自动小鼠无创血压测量仪(四川成都泰盟公司),光学显微镜(宁波舜宇仪器有限公司),台式高速低温离心机(德国Eppendorf公司),分光光度计(德国Eppendorf公司),电子天平(上海越平科学仪器有限公司),电泳仪、电转仪(北京六一仪器厂)。

1.4 实验方法

1.4.1 动物分组及模型复制 将实验动物分为SHR对照组、SHR+NaHS组和WKY组,每组8只。SHR+NaHS组腹腔注射NaHS 56 μ mol/(kg·d),SHR对照组和WKY组每日腹腔注射等量生理盐水,持续8周。

1.4.2 动物血压测量 使用全自动小鼠无创血压测量仪测量WKY大鼠和SHR尾动脉收缩压。使用前预热15~20 min,将大鼠尾根部套在血压计的充气尾套内,待大鼠安静后重复测量3次,取平均值。

1.4.3 大鼠外周血及心肌组织 H_2S 含量的测量 大鼠称重后腹腔注射水合氯醛麻醉,立即抽取外周血,同时取出心脏,用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)将大鼠心脏漂洗干净,按试剂盒说明书步骤测量外周血及心肌组织中 H_2S 的含量。

1.4.4 大鼠心肌病理形态及心肌纤维化程度的观察 用手术刀将大鼠心脏纵切成片,置于甲醛中固定48 h,制成4 μ m厚的石蜡切片,烘干后经过脱蜡、苏木精染色、蓝化、伊红染色、脱水、中性树胶封片、镜

检等步骤完成 HE 染色; 经过脱蜡、铁苏木精染色、酸性乙醇分化、Masson 蓝化液返蓝、丽春红染色、磷钼酸退红、苯胺蓝染色、脱水、透明、中性树胶封片、镜检等步骤完成 Masson 三色染色; 光学显微镜下观察大鼠心肌病理形态和心肌纤维化改变。

1.4.5 大鼠心肌组织中 Cx40、Cx43 的表达检测 对石蜡切片进行脱蜡、抗原修复、过氧化氢孵育、一抗孵育过夜、二抗孵育、DAB 溶液显色、苏木精复染、酸酒精分化、自来水蓝化、脱水、中性树胶封片、镜检等步骤完成免疫组织化学染色, 观察 Cx40、Cx43 的表达变化。

1.4.6 Western blotting 检测大鼠心肌组织中 Cx40、Cx43、 α -SMA、OPN 的表达 心肌组织提取蛋白后, 经制胶、上样、电泳、转膜、封闭、一抗 4℃ 孵育过夜、洗膜、二抗孵育、洗膜、显色、曝光、采集图像后分析结果。

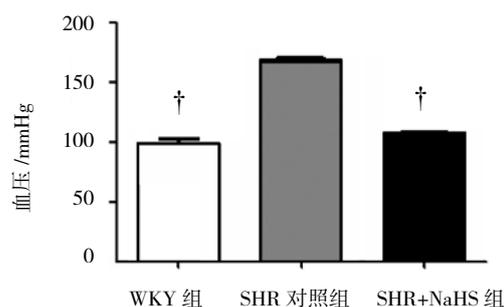
1.5 统计学方法

数据分析采用 GraphPad Prism (Version 5) 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用单因素方差分析, 方差分析的两两比较采用 Dunnett-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠尾动脉收缩压的比较

3 组大鼠的尾动脉收缩压比较, 差异有统计学意义 ($F = 241.800, P = 0.038$)。与 WKY 组大鼠 (99.150 ± 3.371) mmHg 比较, SHR 对照组尾动脉压 (167.600 ± 2.117) mmHg 升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), SHR+NaHS 组大鼠尾动脉压 (107.900 ± 1.175) mmHg 较 SHR 对照组降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。



† 与 SHR 对照组比较, $P < 0.05$

图 1 NaHS 对 SHR 尾动脉收缩压的影响 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

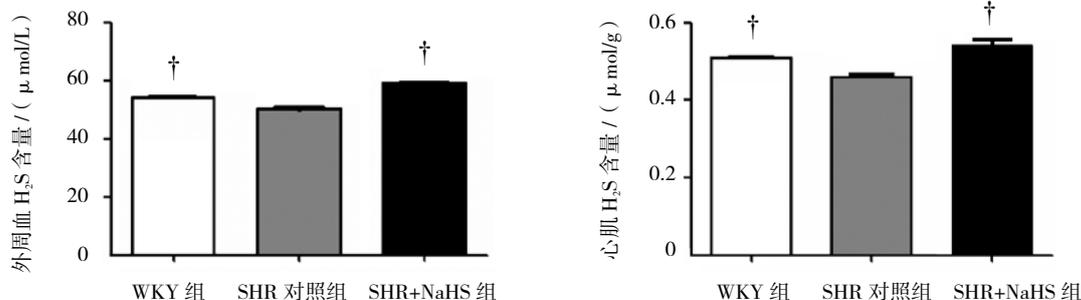
2.2 各组大鼠外周血及心肌 H₂S 含量比较

3 组大鼠的外周血和心肌 H₂S 含量比较, 差异有统计学意义 ($F = 764.300$ 和 $11.950, P = 0.001$ 和 0.008)。SHR 对照组大鼠外周血和心肌 H₂S 含量较 WKY 组降低 [(50.460 ± 0.120) VS (53.920 ± 0.243) μ mol/L, (0.462 ± 0.004) VS (0.508 ± 0.004) μ mol/g] ($P < 0.05$); SHR+NaHS 组外周血及心肌中 H₂S 含量较 SHR 对照组升高 [(50.460 ± 0.120) VS (59.070 ± 0.003) μ mol/L, (0.462 ± 0.004) VS (0.538 ± 0.018) μ mol/g] ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 各组大鼠心肌 HE 染色及 Masson 三色染色结果比较

HE 染色结果示 WKY 组大鼠心肌纤维结构清晰, 间距明显, 排列整齐, 细胞核结构完整且排列规则, 未见细胞变性和炎症细胞浸润; SHR 对照组大鼠心肌纤维结构排列紊乱堆积, 细胞核破碎较多且排列紊乱, 有炎症细胞浸润; SHR+NaHS 组大鼠心肌纤维排列较整齐, 细胞核较完整且排列较规律。见图 3。

Masson 三色染色结果显示, 心肌中细胞核、胶原



† 与 SHR 对照组比较, $P < 0.05$

图 2 NaHS 对 SHR 外周血和心肌中 H₂S 含量的影响 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

纤维和胶原蛋白染成蓝色或绿色，细胞浆、肌肉和红细胞染成红色，SHR 对照组较 WKY 组大鼠间质蓝色胶原纤维增多，NaHS 干预后间质蓝色胶原纤维有所减少。见图 3。

2.4 各组大鼠的 Cx40、Cx43 表达情况

WKY 组大鼠的 Cx40、Cx43 表达位置集中在心肌闰盘处，SHR 对照组大鼠的 Cx40、Cx43 表达上调且在心肌表面随机分布，不局限于心肌闰盘处；SHR+NaHS

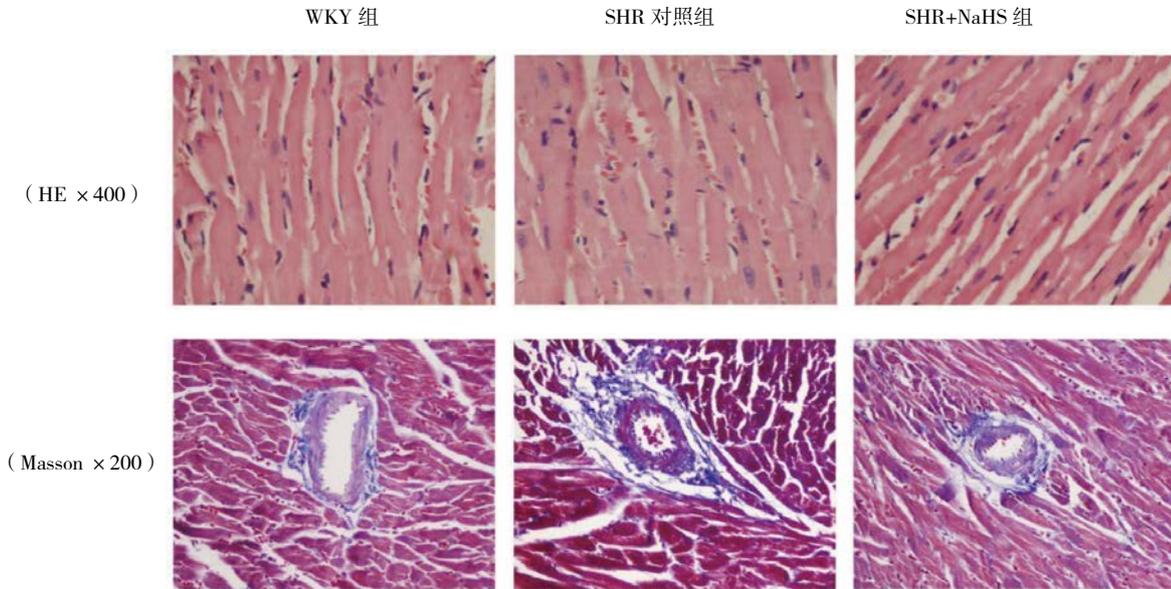


图 3 NaHS 对 SHR 心肌纤维和细胞核的影响

组与 SHR 对照组比较，其 Cx40、Cx43 蛋白表达有所减少且分布较有规律性。见图 4。

2.5 各组大鼠心肌组织中 Cx40、Cx43、 α -SMA 及 OPN 的蛋白表达量的比较

WKY 组、SHR 对照组和 SHR+NaHS 组大鼠心肌

组织中 Cx40、Cx43、 α -SMA 及 OPN 的蛋白表达量比较，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；与 WKY 组大鼠比较，SHR 对照组 Cx40、Cx43、 α -SMA 及 OPN 表达增强 ($P < 0.05$)，NaHS 干预后 Cx40、Cx43、 α -SMA 及 OPN 表达减弱 ($P < 0.05$)。见表 1 和图 5。

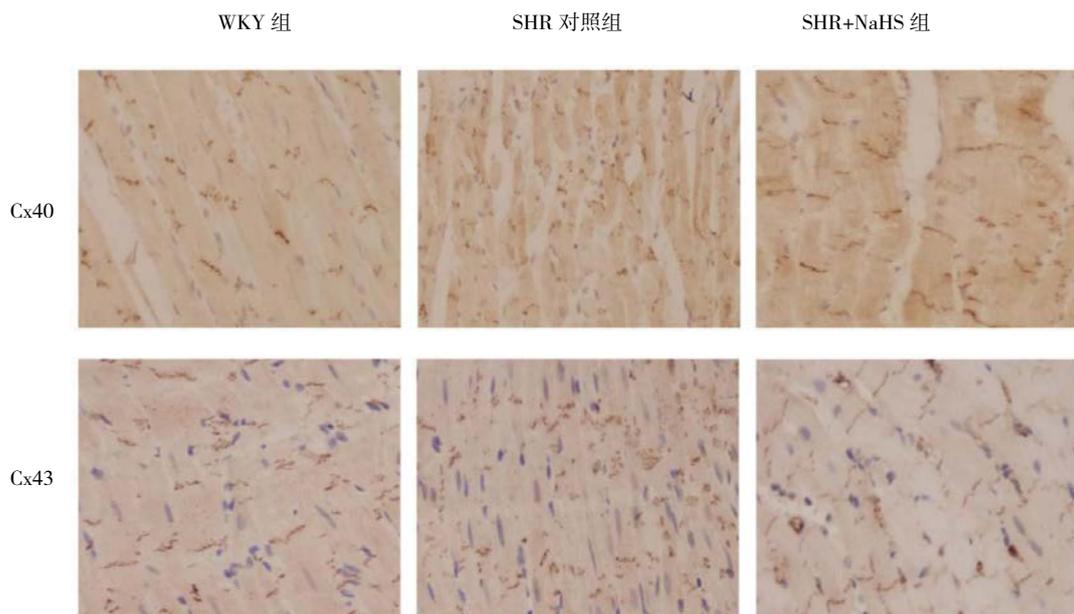


图 4 NaHS 对 SHR 心肌中 Cx40、Cx43 表达的影响 (免疫组织化学 $\times 400$)

表 1 NaHS 对 SHR 心肌中 Cx40、Cx43、 α -SMA 和 OPN 蛋白表达的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	Cx40	Cx43	α -SMA	OPN
WKY 组	1.047 \pm 0.023 [†]	0.983 \pm 0.008 [†]	0.981 \pm 0.010 [†]	0.995 \pm 0.003 [†]
SHR 对照组	1.458 \pm 0.013	1.158 \pm 0.013	1.165 \pm 0.010	1.082 \pm 0.001
SHR+NaHS 组	1.228 \pm 0.009 [†]	0.919 \pm 0.004 [†]	1.042 \pm 0.002 [†]	0.854 \pm 0.012 [†]
F 值	106.600	175.000	127.300	253.000
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: [†] 与 SHR 对照组比较, $P < 0.05$

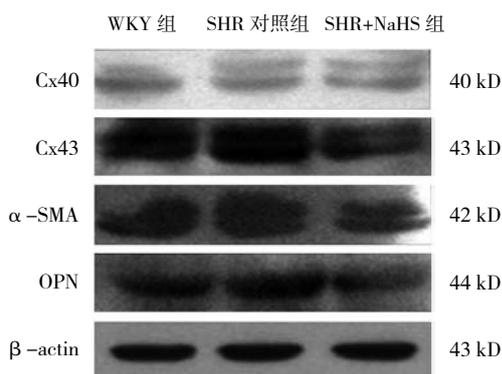


图 5 NaHS 对 SHR 心肌中 Cx40、Cx43、 α -SMA 和 OPN 蛋白表达的影响

3 讨论

心肌纤维化是多种心血管疾病发展到一定阶段的共同病理改变, 高血压的长期刺激使心肌间质的细胞数量、结构和功能出现适应性增生改变, 产生间质纤维化, 是心肌缺血、心力衰竭、心肌梗死等心血管疾病的危险因素^[6-7], 心肌纤维化及心肌重构存在于 SHR 的整个高血压阶段, 且随着鼠龄的增加而逐渐加重^[8], 本实验通过 HE 染色及 Masson 染色也证明 SHR 发生心肌纤维化及心肌重构。心肌细胞中 OPN 蛋白的过量表达会导致心肌组织严重纤维化, 心肌细胞断裂变性, 心室重构的发生^[9]; OPN 敲除可减轻 Ang II 诱导的心肌纤维化和心室重构^[10]; 在大量生长因子和细胞因子的作用下, 成纤维细胞表达大量的 α -SMA 并分泌大量的胶原蛋白, 引起心脏纤维化, 在梗死区可以检测到大量 α -SMA 表达, 提示 α -SMA 参与心肌梗死后心脏受损和心室重构的过程^[11]。以上研究表明, OPN、 α -SMA 的蛋白表达量与心肌纤维化及心室重构呈正相关, 本研究发现 SHR 心肌中的 OPN、 α -SMA 表达升高, 进一步验证 SHR 发生心肌纤维化及心肌重构。

间隙连接是心肌细胞之间主要的连接方式, 大多存在于闰盘处, 在心血管系统中间隙连接蛋白的表达及功能异常与各种心血管疾病相关, 多项研究发现在缺血性心肌病、心肌肥厚及心力衰竭的发病过程中伴随着间隙连接 /Cx43 的重构。据报道心房的快速起搏能诱发左心房组织心肌纤维化和 Cx40 表达升高, 同时发现心房心肌纤维化的程度影响 Cx40 的改变程度^[12]; 有研究表明, SHR 的心肌肥厚中 Cx43 表达上调^[2]; 另有研究显示, 降低小鼠心室肌 Cx43 基因表达可增强纤维细胞的活化, 导致心肌纤维化增多, 提示恢复 Cx43 功能也可能影响心肌重构^[13]。以上研究表明, 间隙连接蛋白的表达与心肌纤维化之间存在不同的相关性, 这可能与实验所取心脏的部位有关。本研究发现, SHR 心肌中 Cx40、Cx43 蛋白表达升高, 同时伴有心肌纤维化程度的增强, 表明间隙连接蛋白的表达与心肌纤维化之间存在着密切的关系。

H₂S 对维持心血管稳态起关键性的作用^[14], 有研究表明 SHR 主动脉 H₂S 的生成量低于 WKY 组大鼠^[15], 给予 SHR 外源性 H₂S 可以降低大鼠动脉血压, 且可减少心肌中胶原含量, 进而改善 SHR 心肌中胶原的堆积, 缓解心肌重构^[16-17]。本实验发现, SHR 外周血及心肌组织中 H₂S 的含量低于 WKY 组大鼠, NaHS 干预后 H₂S 含量增加, 同时 NaHS 干预组大鼠的血压降低, 心肌组织中胶原堆积减少, 心肌重构得到抑制。有研究报道糖尿病大鼠心肌组织 Cx43 在基因、蛋白水平上的表达均有不同程度下降, 而 H₂S 可上调 Cx43 mRNA 表达, 提高 Cx43 蛋白的表达水平, 进而改善细胞间的传导^[18]; H₂S 可改善糖尿病大鼠心肌纤维化, 同时上调 Cx40 蛋白的表达, 可能参与糖尿病大鼠的心肌纤维化和缝隙连接重构的调控^[19]。而本研究发现 SHR 组心肌组织中 Cx40、Cx43 蛋白表达较 WKY 组大鼠增加, 给予 NaHS 可以降低 Cx40、Cx43 的蛋白表达, 同时可改善 SHR 心肌重构, 因此推测 H₂S 可能是通过调控间隙连

接蛋白的表达来缓解心肌重构,但其机制尚不明确,近期研究发现 H₂S 可对特异蛋白进行巯基化修饰,将某些功能蛋白(如 KATP 通道、腺苷酸环化酶、MAPKs) 中半胱氨酸残基的 -SH 转变为 -S-SH,从而使蛋白活性提高^[20];这种翻译后修饰是机体实现心血管保护的重要机制^[21];且 H₂S 通过激活由钙通道介导的 AKT/eNOS/NO 通路来改善由 L-NAME 诱导的高血压性心脏病^[3],另外, H₂S 可能通过 TGF- β /Smad 信号通路来抑制 SHR 心肌中胶原合成^[17]。因此,笔者推测 H₂S 可能是通过巯基化修饰来增强缝隙连接蛋白活性从而起到缓解心肌重构的作用,同时也可能受上述信号通路的影响,然而这一推测有待于进一步验证。

参 考 文 献:

- [1] BERKIN K E, BALL S G. Essential hypertension: the heart and hypertension[J]. *Heart*, 2001, 86(4): 467-475.
- [2] CHEN H J, YAO L, CHEN T G, et al. Atorvastatin prevents connexin 43 remodeling in hypertrophied left ventricular myocardium of spontaneously hypertensive rats[J]. *Chinese Medical Journal*, 2007, 120(21): 1902-1907.
- [3] JIN S, TENG X, XIAO L, et al. Hydrogen sulfide ameliorated L-NAME-induced hypertensive heart disease by the Akt/eNOS/NO pathway[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(18): 1831-1841.
- [4] LIU S, DUAN X, JIN S, et al. Hydrogen sulfide improves myocardial remodeling via downregulated angiotensin II /AT1R pathway in renovascular hypertensive rats[J]. *Am J Hypertens*, 2017, 30(1): 67-74.
- [5] HUANG P, SHEN Z, YU W, et al. Hydrogen sulfide inhibits high-salt diet-induced myocardial oxidative stress and myocardial hypertrophy in dahl rats[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8(117): 117-128.
- [6] DÍEZ J. Mechanisms of cardiac fibrosis in hypertension[J]. *Journal of Clinical Hypertension*, 2010, 9(7): 546-550.
- [7] BABÜR G G, KARAAHMET T, TIGEN K. Myocardial fibrosis detected by cardiac magnetic resonance imaging in heart failure: impact on remodeling, diastolic function and BNP levels[J]. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 2011, 11(1): 71-76.
- [8] 余国龙, 梁晓秋, 谢秀梅, 等. 高血压大鼠心脏肥厚过程中心肌细胞凋亡心肌纤维化动态观察[J]. *中华高血压杂志*, 2001, 9(4): 322-325.
- [9] LENG A Y, KOH A, PERERA A S, et al. Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation[J]. *Circulation Research*, 2008, 102(3): 319-327.
- [10] 赵辉. 抑制心肌组织骨桥蛋白的表达减轻扩张型心肌病小鼠心室重构以及黏着斑激酶介导骨桥蛋白诱导心脏成纤维细胞分泌 I 型胶原纤维的研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
- [11] 洪攀. 心肌纤维化中 I 型纤维状胶原蛋白经由 $\alpha_2\beta_1$ 整合素介导的成纤维细胞表型转化相关分子通路机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2017.
- [12] 邢晓倩, 徐健, 苏浩, 等. 犬心房颤动模型缝隙连接蛋白 40、45 与心肌纤维化的相关性[J]. *中华心血管病杂志*, 2011, 39(2): 176-180.
- [13] JANSEN J A, van VEEN T A, de JONG S, et al. Reduced Cx43 expression triggers increased fibrosis due to enhanced fibroblast activity[J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2012, 5(2): 380-390.
- [14] PATEL V B, MCLEAN B A, CHEN X, et al. Hydrogen sulfide: an old gas with new cardioprotective effects[J]. *Clinical Science*, 2015, 128(5): 321-323.
- [15] 赵霞, 金红芳, 杜军保, 等. 硫化氢对自发性高血压大鼠血管胶原含量的调节效应[C]// 中华医学会第五次全国儿科中青年学术交流大会论文汇编. 北京: 中华医学会儿科分会, 2008.
- [16] YAN H, DU J, TANG C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2004, 313(1): 22-27.
- [17] SUN L L, JIN H F, SUN L J, et al. Hydrogen sulfide alleviates myocardial collagen remodeling in association with inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway in spontaneously hypertensive rats[J]. *Mol Med*, 2015, 20: 503-515.
- [18] 李维正, 刘同祥, 徐林林, 等. 糖尿病大鼠心肌组织缝隙连接蛋白 43 的表达及硫化氢的干预作用[J]. *潍坊医学院学报*, 2015, 37(5): 324-326.
- [19] 肖婷, 罗健, 吴志雄, 等. 硫化氢对糖尿病大鼠心肌纤维化及 CX40 和 CX45 表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(21): 6025-6027.
- [20] OLAS B. Hydrogen sulfide in signaling pathways[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2015, 439: 212-218.
- [21] LIU Y H, LU M, HU L F, et al. Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 17(1): 141-185.

(王荣兵 编辑)