

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.09.003  
文章编号: 1005-8982(2017)09-0013-06

## 硫化氢减轻糖尿病小鼠胰岛素抵抗的作用机制研究

孙耀, 贾云宏

(锦州医科大学 药学院, 辽宁 锦州 121000)

**摘要:目的** 探究硫化氢(H<sub>2</sub>S)对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的作用和可能的分子机制。**方法** C57Bl/6J小鼠随机分为正常对照组、糖尿病组、低剂量治疗组、高剂量治疗组及阳性对照组,四氧嘧啶联合高脂饮食复制糖尿病小鼠模型,检测各组小鼠脂肪组织中 Caspase-3 的活性、B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl2)、Bcl-2 相关 X(Bax)蛋白的表达水平,以及空腹血糖、空腹血清胰岛素和血浆 H<sub>2</sub>S 浓度,并计算胰岛素敏感指数。**结果** 糖尿病小鼠 Caspase-3 活性和 Bax 表达水平下调,而 Bcl2 蛋白表达水平上调,治疗组各指标得到缓解。**结论** H<sub>2</sub>S 可以减轻胰岛素抵抗,其机制可能为减轻脂肪组织的细胞凋亡。

**关键词:** 硫化氢;糖尿病;胰岛素抵抗;脂肪组织;凋亡

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

### Hydrogen sulfide alleviates insulin resistance by reducing apoptosis of adipose cells in diabetic mice

Yao Sun, Yun-hong Jia

(College of Pharmacy, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of hydrogen sulfide on insulin resistance and its mechanism in mice with diabetes mellitus. **Methods** C57Bl/6J mice were randomly divided into normal control group, diabetes mellitus group, low-dose therapy group, high-dose therapy group and positive control group. Diabetes mellitus models were established by high-fat diet and tetraoxypyrimidine. Caspase-3 activity, Bcl-2 and Bax expressions in adipose tissue were measured, as well as fasting plasma glucose, fasting serum insulin and hydrogen sulfide in plasma. Then, insulin sensitivity index was calculated. **Results** Caspase-3 activity and Bax level were down-regulated, while Bcl2 was up-regulated in mice with diabetes mellitus, and all the indexes recovered after therapy with sodium hydrosulfide. **Conclusions** Hydrogen sulfide could alleviate insulin resistance by reducing the apoptosis of adipose cells.

**Keywords:** hydrogen sulfide; diabetes mellitus; insulin resistance; adipose tissue; apoptosis

硫化氢(hydrogen sulfide, H<sub>2</sub>S)是继一氧化氮 NO 后发现的又一重要气体信号分子,在疾病发生、发展中起重要作用。硫化氢钠(sodium hydrosulfide, NaHS)口服给药进入体内后,可以在各组织释放出 H<sub>2</sub>S,该作用已经广泛应用于科学研究。近年来糖尿病发病率不断升高,调查显示我国成人糖尿病的患病率达 9.7%,更为严重的是处于糖尿病前期的比例达 15.5%<sup>[1]</sup>。糖尿病的研究和治疗已成为当务之急。

有研究认为, H<sub>2</sub>S 可以缓解多种细胞的凋亡<sup>[2]</sup>。也有研究认为,脂肪组织细胞的凋亡和胰岛素抵抗相关, Caspase 3 是与细胞凋亡相关的重要蛋白分子,而其作用可以被 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl2)和 BCL-2 相关 X 蛋白(B-cell lymphoma-2 associated X protein, Bax)形成的异源二聚体阻断<sup>[3]</sup>。本实验检测正常小鼠、糖尿病小鼠及各治疗组小鼠的胰岛素抵抗情况、反映脂肪组织细胞凋

收稿日期: 2016-08-18

[通信作者] 贾云宏, E-mail: Jayunhong2012@163.com; Tel: 18104068238

亡的 Caspase-3 活性,以及 Bcl2 和 Bax 的表达量,进而探究糖尿病小鼠胰岛素抵抗与脂肪组织细胞凋亡的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 4 周龄 C57BL/6J 小鼠 75 只 [北京华阜康公司, 编号: SCXK (京) 2009-0015], 体重  $12 \pm 1$  g, 均为雄性, 随机分为正常对照组 NC 组 (8 只) 和模型组 (67 只)。自由饮水、摄食, 动物房内 12 h 昼夜循环, 室温  $22 \pm 2$  °C。四氧嘧啶 美国 SIGMA 公司, 120 mg/kg, 2 次腹腔注射) 复制糖尿病小鼠模型, 专用高能量饲料 (10% 蔗糖、10% 脂肪) (北京华阜康公司) 用于模型组小鼠喂养, 小鼠全价营养颗粒基础饲料 (北京华阜康公司) 用于正常 C57BL/6J 小鼠喂养。入组的糖尿病小鼠连续 2 次随机血糖  $\geq 13.9$  mmol/L。将复制成功的 39 只小鼠分为糖尿病组 DM 组 (12 只)、低剂量治疗组 LT 组 (9 只)、高剂量治疗组 HT 组 (9 只) 及阳性对照组 PC 组 (9 只)。对照组和糖尿病组自由饮取无菌水, 低剂量治疗组和高剂量治疗组分别饮用 0.003 和 0.009 g/L NaHS 无菌水溶液, 阳性对照组小鼠给予吡格列酮 1.95 mg/kg 灌胃, 自由饮取无菌水。8 周后, 糖尿病小鼠死亡 3 只, 低剂量治疗组和阳性对照组小鼠各死亡 1 只, 将糖尿病组小鼠和高剂量治疗组小鼠各随机剔除 1 只, 其余用于实验。所有动物实验过程按照锦州医科大学伦理委员会规定进行。

### 1.2 生化指标检测

用药 8 周后, 各组小鼠禁食 6 h, 断头取血, 留取血清测定空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG), 用放射免疫分析 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 法测定空腹血清胰岛素 (fasting serum insulin, FINS), 根据公式计算胰岛素敏感指数 (insulin sensitive index, ISI),  $ISI = 1 / (FPG \times FINS)$ , 取自然对数正态化后进行分析。

### 1.3 血浆硫化氢浓度测定

新鲜血分离血浆, 立即采用 1.5 ml 离心管储存, 封口膜封存以防止硫化氢损失, 100  $\mu$  l 血浆和 350  $\mu$  l 磷酸盐缓冲溶液 (pH=7.4) 加入 200  $\mu$  l 1% 无水醋酸锌, 立即封存。将 20 mmol N,N 二甲基硫酸盐 7.2 mol/L, 133  $\mu$  l) 和 30 mmol FeCl<sub>3</sub> 1.2 mol/L, 133  $\mu$  l) 的盐酸溶液混合, 37°C 孵育 45 min, 三氯乙

酸溶液 (10% W/V, 250  $\mu$  l) 终止反应, 离心 5 min, 取 200  $\mu$  l 上清液移入 96 孔板, 测 670 nm 处吸光度值, 根据已知浓度的 NaHS 0.01~100.00  $\mu$  mol/l) 做标准曲线, 计算硫化氢浓度。

### 1.4 Caspase-3 活性检测

1.4.1 组织总蛋白提取及定量 用药 8 周后处死小鼠, 速取部分腹腔脂肪组织, 置入 -80°C 冰箱冷冻保存备用。取少量小鼠脂肪组织剪碎后加细胞裂解液 [RIPA: 蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF) 为 100:1, 体积约为组织体积的 5 倍], 匀浆机匀浆 30 s, 12 000 r/min 离心 10 min, 取中层液体, 聚氧基丙烯酸正丁酯蛋白定量试剂盒 (北京博奥森公司) 测总浓度, 并调整各蛋白浓度 2 mg/ml, 置入 -80°C 冰箱保存备用。

1.4.2 Caspase-3 活性检测 Caspase-3 分光光度法检测试剂盒 (沈阳万类公司) 检测 Caspase-3 活性, 结果以试剂盒中相同吸光度值的标准品浓度表示。

### 1.5 Western blot 检测

1.5.1 取材及蛋白定量 取材及蛋白定量同 1.4.1, 取备用样本、6 $\times$  上样缓冲液, 三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液 (tris buffered saline and tween 20, TBST) 调整蛋白浓度均为 2 mg/ml, 95°C 水浴 5 min, 置入 -80°C 冷冻保存备用。

1.5.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳 12% 分离胶和 5% 浓缩胶, 20  $\mu$  l 孔的样本及小分子 Marker (上海赛默飞公司) 上样进行电泳, 1 $\times$  上样缓冲液防止边缘效应。采用湿转法转蛋白至聚偏氟乙烯膜, Bcl2 和 Bax 多克隆抗体 (北京博奥森公司) 4°C 过夜, 过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗孵育 2 h。用 GeneSnap 凝胶图像分析仪及成像。

### 1.6 实时荧光定量聚合酶链反应

Trizol 提取总 mRNA, Nandrop 2000 检测总 mRNA 量, RNeasy Plus Mini 试剂盒 (大连 TaKaRa 生物科技公司) 将 mRNA 反转录为 cDNA, QIAGEN Fast Cycling 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司)。PCR 反应条件: 95°C 预变性 10 s, 95°C 变性 5 s, 60°C 退火 15 s, 70°C 延伸 15 s, 共 45 个循环。引物由上海生工生物工程股份有限公司设计并合成, Bcl2 正向引物: 5'-CCCCTCGCATCTTCTCCTTCC-3', 反向引物: 5'-CACCACCTCCTTGAGAAGTCC-3'; Bax 正向引物: 5'-CCAGGATGCGTCCACCAA-3', 反向引物: 5'-CACCAACGGGAGAAGATGAAACG-3'; 甘油醛-3-磷酸

脱氢酶正向引物:5'-TTGTCAAGCTCATTTCTGGTAG-3',反向引物:5'-GGATAGGGCCTCTCTTGCTCA-3',所得数据以甘油醛-3-磷酸脱氢酶作为参照,计算 *Bax* 和 *Bcl2* 基因的相对拷贝数,相对拷贝数用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  表示。

### 1.7 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,用方差分析,两两比较用 LSD-*t* 法,*Bax* mRNA/*Bcl2* mRNA 比值部分资料,方差不齐,采用 Tamhane's T2 法, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 生化指标

各组小鼠 FPG、FINS、ISI 比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=21.923, 75.311$  和  $55.873, P=0.000$ )。糖尿病组小鼠 FPG、FINS 及 ISI 与正常对照组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),糖尿病组小鼠 FINS 较高,而 ISI 较低;低剂量治疗组、高剂量治疗组小鼠 FPG、FINS 及 ISI 与糖尿病组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),低剂量治疗组和高剂量治疗组小鼠各指标得到改善。高剂量治疗组小鼠 FPG、FINS 及 ISI 与

低剂量治疗组比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 1~3。

### 2.2 血浆硫化氢浓度

各组小鼠血浆硫化氢浓度比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=48.506, P=0.000$ )。糖尿病组血浆硫化氢浓度与正常对照组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),糖尿病组血浆硫化氢浓度较低;低剂量治疗组、高剂量治疗组血浆硫化氢浓度与糖尿病组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),低剂量治疗组、高剂量治疗组血浆硫化氢浓度较高;高剂量治疗组小鼠血浆硫化氢浓度与低剂量治疗组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),高剂量治疗组小鼠血浆硫化氢浓度高于低剂量治疗组。见图 4。

### 2.3 Caspase-3 活性

各组小鼠脂肪组织 Caspase-3 活性比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=221.887, P=0.000$ )。糖尿病组小鼠脂肪组织 Caspase-3 活性与正常对照组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),糖尿病组小鼠脂肪组织 Caspase-3 活性较高;低剂量治疗组小鼠 Caspase-3 活性与糖尿病组小鼠比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),Caspase-3 活性有所降低;高剂量治疗组小鼠

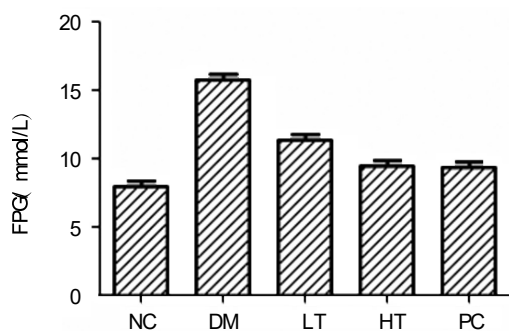


图1 各组小鼠 FPG 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

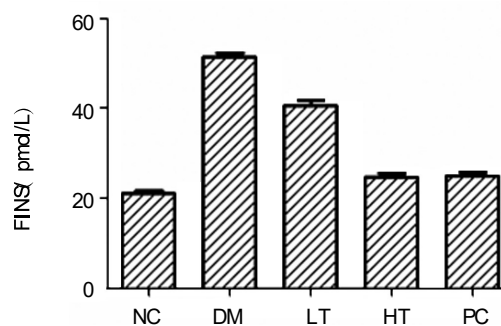


图2 各组小鼠 FINS 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

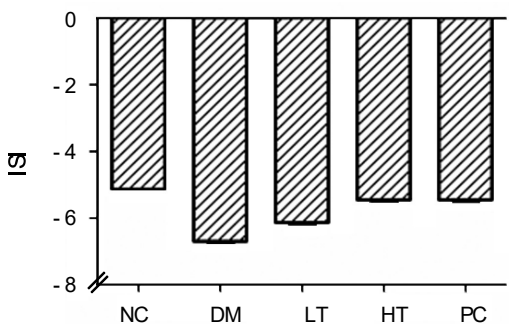


图3 各组小鼠 ISI 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

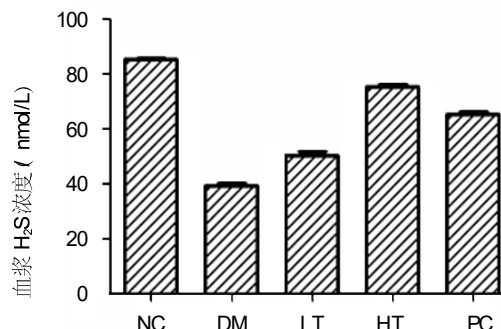


图4 各组小鼠血浆硫化氢浓度 ( $\bar{x} \pm s$ )

Caspase-3 活性与低剂量治疗组小鼠比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),Caspase-3 活性进一步降低。见图 5。

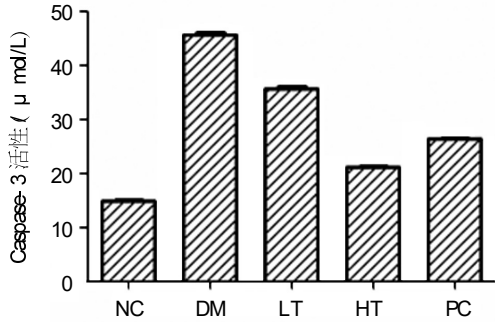


图 5 各组小鼠脂肪组织 Caspase-3 活性 ( $\bar{x} \pm s$ )

2.4 Bax、Bcl2 蛋白表达水平变化

各组小鼠 Bax、Bcl2 蛋白表达水平及 Bax/Bcl2 比值比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=34.711, 11.658$  和  $18.232, P=0.000, 0.001$  和  $0.000$ )。糖尿病组小鼠脂肪组织 Bax 蛋白表达水平与正常对照组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),糖尿病组小鼠脂肪组织 Bax 蛋白表达增加;糖尿病组小鼠 Bcl2 蛋白表达水平与正常对照组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),糖尿病组小鼠 Bcl2 蛋白表达水平降低;糖尿病组小鼠

Bax/Bcl2 比值与正常对照组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),糖尿病组小鼠 Bax/Bcl2 比值升高;低剂量治疗组糖尿病小鼠脂肪组织 Bax 蛋白与高剂量治疗组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),糖尿病小鼠脂肪组织 Bax 蛋白表达降低,而低剂量治疗组小鼠 Bcl2 蛋白与高剂量治疗组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),低剂量治疗组小鼠 Bcl2 表达增加;低剂量治疗组小鼠 Bax/Bcl2 比值与高剂量治疗组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),低剂量治疗组小鼠 Bax/Bcl2 比值降低;高剂量治疗组小鼠 Bax/Bcl2 比值与低剂量治疗组比较,经 LSD-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),高剂量治疗组小鼠 Bax/Bcl2 比值低于低剂量治疗组。见图 6~9。

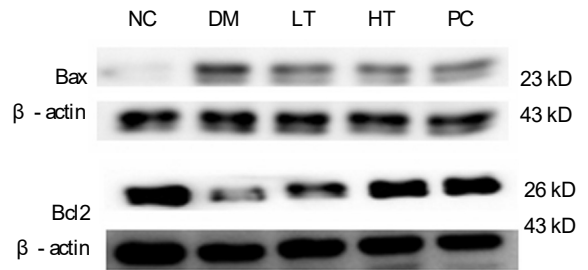


图 6 Western blot 检测各组小鼠脂肪组织 Bax、Bcl2 蛋白表达

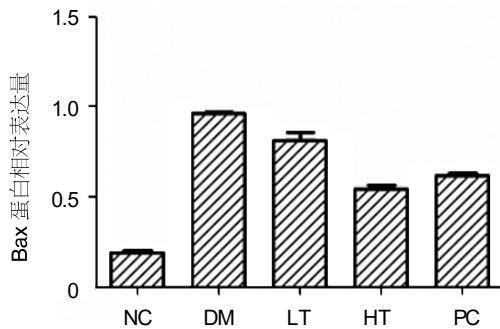


图 7 各组小鼠脂肪组织 Bax 蛋白相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

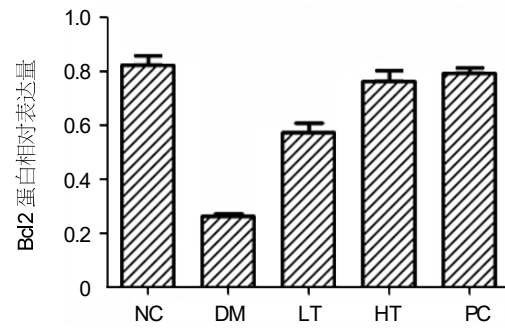


图 8 各组小鼠脂肪组织 Bcl2 蛋白相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

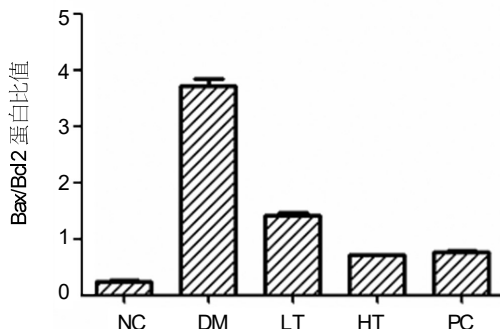


图 9 各组小鼠脂肪组织 Bax/Bcl2 蛋白比值 ( $\bar{x} \pm s$ )

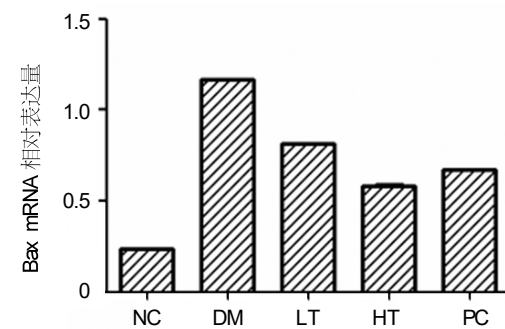


图 10 各组小鼠脂肪组织 Bax mRNA 相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 2.5 Bax、Bcl2 mRNA表达水平变化

各组小鼠 Bax mRNA、Bcl2 mRNA 及 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=164\ 705.306、303\ 239.562$  和  $20\ 008.636, P=0.000$ )。两两比较用 LSD 法或 Tamhane's T2 法,结果表明,糖尿病组小鼠脂肪组织 Bax mRNA、Bcl2 mRNA 表达水平与正常对照组比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),糖尿病组小鼠脂肪组织 Bax mRNA 表达增加,Bcl2 mRNA 表达水平降低;糖尿病组小鼠脂肪组织 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值与正常对照组比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),糖尿病组小鼠

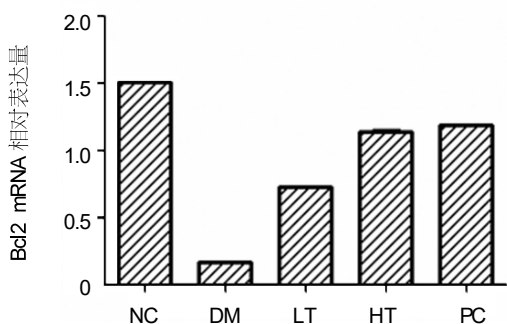


图 11 各组小鼠脂肪组织 Bcl2 mRNA 相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

脂肪组织 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值较高;低剂量治疗组、高剂量治疗组小鼠 Bax mRNA、Bcl2 mRNA 及 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值与糖尿病组比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),低剂量治疗组和高剂量治疗组脂肪组织 Bax mRNA 表达降低,Bcl2 mRNA 表达增加,Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值降低;高剂量治疗组 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值与低剂量治疗组比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),高剂量治疗组 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值低于低剂量治疗组。见图 10~12。

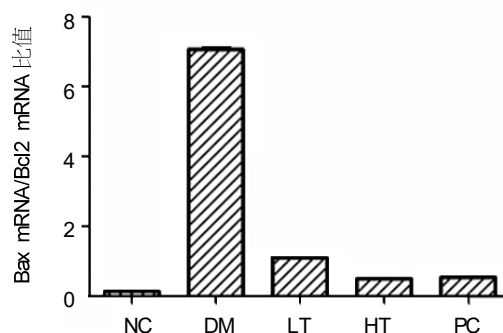


图 12 各组小鼠脂肪组织 Bax mRNA/Bcl2 mRNA 比值 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 3 讨论

糖尿病胰岛素抵抗是糖尿病治疗的重要难题之一。有报道显示,糖尿病患病率高达 9.7%,而糖尿病前期更是高达 15.5%<sup>[1]</sup>。无论是糖尿病患者,还是糖尿病前期患者,普遍存在胰岛素抵抗,严重影响患者的治疗和预后,硫化氢近年来被证实是一种新型气体信号分子,参与机体内许多生理功能的调控<sup>[2]</sup>。JIAN 等<sup>[3]</sup>首次报道,2 型糖尿病患者血浆 H<sub>2</sub>S 水平比正常人降低。有研究证实,硫化氢与肥胖小鼠胰岛素抵抗相关<sup>[4]</sup>。笔者猜想外源性补充硫化氢可能减轻糖尿病小鼠的胰岛素抵抗。NaHS 作为一种常见的硫化氢供体已广泛用于科学研究,故低剂量治疗组和高剂量治疗组采用 NaHS 作为硫化氢供体,用于糖尿病小鼠的治疗,同时使用能提高胰岛素敏感性的吡格列酮用于阳性对照组小鼠治疗。本实验结果显示,NaHS 在实验中达到相应稳定的硫化氢血药浓度。本实验检测糖尿病小鼠血糖和 FINS 发现,与正常对照组小鼠相比,糖尿病组小鼠 FPG 和 FINS 升高,ISI 下降,在硫化氢治疗后,FPG 和 FINS 下降,ISI 升高。

说明外源性补充硫化氢可以减轻糖尿病小鼠胰岛素抵抗。硫化氢也被报道其在心脏和肾脏缺血再灌注模型中具有明显的抗凋亡生物学效应<sup>[5]</sup>。目前,发现外源性补充 H<sub>2</sub>S 的供体 NaHS 可以明显改善心肌细胞凋亡<sup>[6-9]</sup>。然而糖尿病小鼠脂肪组织中是否有明显的细胞凋亡,以及外源性补充硫化氢是否可以缓解脂肪组织的凋亡还没有相关报道。

Caspase 家族在凋亡过程中起重要作用,当 Caspase 家族基因层层激活后,最终导致细胞凋亡,Caspase-3 在 Caspase 家族中处于关键位置,因此 Caspase-3 常作为凋亡发生的标志酶。笔者检测小鼠脂肪组织中 Caspase-3 的活性,结果发现,与正常对照组小鼠相比,糖尿病小鼠脂肪组织 Caspase-3 活性增加,而在硫化氢治疗后,其活性降低且存在剂量依赖性<sup>[10]</sup>。这提示硫化氢减轻糖尿病小鼠胰岛素抵抗可能与减轻脂肪组织的细胞凋亡有关。

胰岛素抵抗 Bcl-2 家族蛋白在细胞凋亡中的作用分为两类:①以 Bcl-2 为代表的抗凋亡蛋白;②以 Bax 为代表的促凋亡蛋白。Bcl-2 和 Bax 可以形成异

源二聚体,阻断细胞色素 C 的释放,继而抑制 Caspase-3 蛋白的活化,有效抑制细胞凋亡<sup>[11]</sup>。当 Bcl-2/Bax 比值增高时,提示抑制细胞凋亡的作用增强;反之,提示促进细胞凋亡作用增强,因此 Bax/Bcl-2 蛋白比值决定细胞的生存和死亡<sup>[12-13]</sup>。为进一步确认糖尿病小鼠脂肪组织细胞凋亡增加,而在硫化氢治疗后减少,笔者采用 Western blot 和实时荧光定量聚合酶链反应检测小鼠脂肪组织 Bcl2、Bax 蛋白及 mRNA 的表达量。笔者发现和对照组相比,糖尿病组小鼠脂肪组织的 Bax 和 Bcl2 表达增加,在硫化氢治疗后减少。该结果进一步确认笔者的发现,与治疗组相比,糖尿病小鼠脂肪组织细胞凋亡增加,硫化氢治疗后凋亡减少。

综上所述,硫化氢减轻糖尿病小鼠胰岛素抵抗,这可能与其缓解脂肪组织的细胞凋亡有关。但是该结果有待进一步利用基因沉默和过表达等方法调节 Bax 和 / 或 Bcl2 的表达来进一步研究。

#### 参 考 文 献:

- [1] YANG W, LU J, WENG J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] LEI Y, ZHEN Y, ZHANG W, et al. Exogenous hydrogen sulfide exerts proliferation, anti-apoptosis angiogenesis and migration effects via activating HSP90 pathway in EC109 cells[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3714-3720.
- [3] LI L, LI M, LI Y, et al. Exogenous H<sub>2</sub>S contributes to recovery of ischemic post-conditioning-induced cardioprotection by decrease of ROS level via down regulation of NF- $\kappa$ B and JAK2-STAT3 pathways in the aging cardiomyocytes[J]. *Cell Biosci*, 2016, 6: 26.
- [4] JIN H F, DU J B, TANG C S. Waste gas is not waste: advance in the research of hydrogen sulfide[J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2010, 62(6): 495-504.
- [5] JAIN S K, BULL R, RAINS J L, et al. Low levels of hydrogen sulfide in the blood of diabetes patients and streptozotocin-treated rats causes vascular inflammation[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 12(11): 1333-1337.
- [6] GENG B, CAI B, LIAO F, et al. Increase or decrease hydrogen sulfide exert opposite lipolysis, but reduce global insulin resistance in high fatty diet induced obese mice[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): DOI: 10.1371/journal.pone.0073892.
- [7] JHA S, CALVERT J W, DURANSKI M R, et al. Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury: role of antioxidant and antiapoptotic signaling[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(2): 801-806.
- [8] SU Y W, LIANG C, JIN H F, et al. Hydrogen sulfide regulates cardiac function and structure in adriamycin-induced cardiomyopathy[J]. *Circ J*, 2009, 73(4): 741-749.
- [9] JIA Q, YANG R, MA S F, et al. Anti-apoptotic role of hydrogen sulfide on cardioprotection in diabetic rats[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2014, 49(2): 172-176.
- [10] BERNARDI P, RASOLA A. Calcium and cell death: the mitochondrial connection [J]. *Subcell Biochem*, 2007, 45(1): 481-506.
- [11] LEE Y, GUSTAFSSON A B. Role of apoptosis in cardiovascular disease[J]. *Apoptosis*, 2009, 14(4): 536-548.
- [12] BOUILLET P, PURTON J F, GODFREY D I, et al. BH3-only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes[J]. *Nature*, 2002, 415(6874): 922-926.
- [13] ANTONSSON B. Mitochondria and the Bcl-2 family proteins in apoptosis signaling pathways[J]. *Mol Cell Biochem*, 2004, 256(1/2): 141-155.

(童颖丹 编辑)