第 44 卷 第 4 期
2019 年 4 月

贵 州 医 科 大 学 学 报
JOURNAL OF GUIZHOU MEDICAL UNIVERSITY

Vol. 44 No. 4
2019. 4

·专题研究 2·

外源性 H_2S 对血管性痴呆大鼠海马 MDA、SOD、Cyt C 表达的影响*

刘雨霞[1,2]**，郑 菊[1,2]，肖子宇[1,2]，张文萍[1,2]，李 毅[1,2]，吴昌学[1,2]，官志忠[1,2]，肖 雁[1,2]***

(1. 贵州医科大学 地方病与少数民族疾病教育部重点实验室，贵州 贵阳 550004；2. 贵州医科大学 贵州省医学分子生物学重点实验室，贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的：**探讨外源性硫化氢(H_2S)对血管性痴呆大鼠(VaD)学习记忆能力、脑组织中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性及神经元细胞色素 C(Cyt C)表达的影响。**方法：**60 只成年健康雄性 SD 大鼠随机分为假手术组(Sham)、模型组(VaD)、阳性对照组(Nimodipine)、NaSH 低剂量组(Low-NaSH)及 NaSH 高剂量组(High-NaSH)，除假手术组(仅分离双侧颈总动脉但不结扎)外，其余 4 组大鼠采用改良二血管法复制大鼠 VaD 模型，造模后阳性对照组给予尼莫地平 10 mg/(kg·d)灌胃给药，NaSH 低、高剂量组分别给予 30 μmoL/(kg·d)、100 μmoL/(kg·d) NaSH 灌胃给药，模型组及假手术组均给予等量生理盐水灌胃；给药 30 d 时，采用 Morris 水迷宫检测各组大鼠学习记忆能力，水迷宫测试结束后采用 BCA 蛋白定量法测定样本蛋白浓度记为 $C_{样本}$，结合标准曲线计算组织中 MDA 含量；用 BCA 法测定样本蛋白浓度 $C_{样本}$，计算组织中 SOD 活力单位；Western blot 法检测海马胞浆 Cyt C 表达。**结果：**与 Sham 组比较，VaD 组大鼠的学习记忆能力显著下降，神经元胞浆蛋白中 Cyt C 表达显著升高，脑组织中 MDA 含量显著增多、SOD 活性显著升高($P<0.01$)；与 VaD 组大鼠比较，加 NaSH 处理后，大鼠学习记忆能力显著提高，神经元胞浆蛋白中 Cyt C 表达显著降低、脑组织中 MDA 含量及 SOD 活性均显著降低($P<0.01$)，与阳性对照组结果相近。**结论：**NaSH 可改善 VaD 大鼠的学习记忆能力，其机制可能与 NaSH 降低大鼠海马的氧化应激水平、保护神经元细胞中线粒体功能有关。

[关键词] 痴呆，血管性；硫化氢；细胞色素 C；氧化应激；水迷宫；丙二醛；超氧化物歧化酶

[中图分类号] R749.13 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2019)04-0393-06

DOI：10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.04.004

Effect of Exogenous H2S on Learning, Memory, MDA, SOD and Cyt C Expression in Brain Tissue of Rats with Vascular Dementia

LIU Yuxia[1,2], ZHENG Ju[1,2], XIAO Ziyu[1,2], ZHANG Wenping[1,2], LI Yi[1,2], WU Changxue[1,2], GUAN Zhizhong[1,2], XIAO Yan[1,2]

(*1. Key Laboratory of Endemic and Ethnic Diseases, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Key Laboratory of Molecular Biology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China*)

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the effect of exogenous hydrogen sulfide (H2S) on the learning, memory, malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity of brain tissues and neuron cytochrome C (Cyt C) expression of rats with vascular dementia (VaD). **Methods:** Sixty healthy male SD rats were randomly divided into sham operation group (Sham), model group (VaD), positive control group (Nimodipine), NaSH low dose group (Low-NaSH) and NaSH high

*[基金项目]国家自然科学基金(81660207)；贵州省科技厅重大专项[黔科合重大专项字(2014)6008]；贵州省科技厅基金项目[黔科合基础(2017)1149]，[黔科合平台人才(2016)5612]；教育部创新团队(IRT13058)

**贵州医科大学 2016 级硕士研究生

***通信作者 E-mail：xiaoyanhonan@hotmail.com

网络出版时间：2019-04-26 网络出版地址：http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190425.2119.004.html

dose group (High- NaSH). The bilateral common carotid arteries were only isolated but not ligated in the sham group, and other rats were treated using the modified two-vessel method to generated VaD model. After the VaD model was established, the positive control group was intragastric administered with nimodipine 10 mg/(kg · d), and NaSH low- and high-dose groups were administered with 30 μmol/(kg · d) and 100 μmol/(kg · d) NaSH, respectively, while the model group and the sham group were given normal saline. After 30 day-treatment, the Morris water maze was used to detect rat learning and memory. The content of MDA and SOD activity in brain tissue were measured using their specific kits. T he expression level of Cyt C was measured by Western blot. **Results**: Compared with the Sham group, the learning and memory of the VaD group was significantly decreased, the expression of Cyt C in the cytoplasm of the neurons , MDA content and SOD activity in the brain tissue were significantly increased ($P<0.01$). Compared with VaD group, the learning and memory of NaSH group was significantly increased after NaSH treatment, and the expression of Cyt C in neuronal cytoplasm was significantly decreased, and the MDA content and SOD activity in brain tissue were significantly decreased ($P<0.01$). NaSH group exhibits similar phenotype to the positive control group. **Conclusion**: NaSH treatment can improve the learning and memory of VaD rats. The mechanism may be related to the decrease of oxidative stress in hippocampus and the protection of mitochondrial function in neurons.

[**Key words**] vascular dementia; hydrogen sulfide; cytochrome C; oxidative stress; water maze; malondialdehyde; superoxide dismutase

血管性痴呆(vascular dementia,VaD)是指由缺血性、出血性及慢性缺氧缺血性脑血管疾病引起的脑功能障碍而产生的获得性智能损害综合征[1],被广泛认为是除阿尔茨海默病后第 2 种最常见的痴呆类型,其临床表现主要有神经认知障碍、行为症状及运动异常[2],其的主要发病机制包括炎症反应和氧化应激。硫化氢(hydrogen sulfide,H_2S)在其生理作用被发现之前,被公认为是一种毒性气体[3],而近年的研究表明 H_2S 是一种新型气体递质,可通过抗炎症[4]和抗氧化应激对心脑血管起到保护作用[5]。有研究指出,H_2S 对脑缺血小鼠的血脑屏障完整性起着保护作用[6]。现已证实 H_2S 在氧糖剥夺再灌注诱导的神经元细胞凋亡中对保持线粒体功能具有一定的作用[7],但目前尚不清楚 H_2S 对 VaD 大鼠保护作用的具体机制。本研究利用改良二血管法(2-vessel occlusion,2-VO)制作 VaD 模型,以 NaSH 做为 H_2S 供体,探讨 H_2S 对 VaD 大鼠的保护作用及机制。

1　材料和方法

1.1　动物、试剂及仪器

1.1.1　动物　成年健康雄性 SD 大鼠 70 只,体质量 220 ~250 g [购自贵州医科大学动物实验中心,合同号 SCKY(黔)2018 -0001]。

1.1.2　试剂　NaSH 购于美国 Sigma 公司,细胞色素 C(cytochrome C,Cyt C) 抗体购自美国 GeneTex 公司,β-actin 抗体购自美国 Abcam 公司,HRP 标记的抗鼠二抗购于北京中杉金桥公司,HRP 标记的抗兔二抗购于北京中杉金桥公司, BCA 蛋白定量试剂、ECL-Plus 发光液购于美国 Thermo Fisher Scientific 公司,丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒购于碧云天生物试剂公司,总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒检测试剂盒购于碧云天生物试剂公司,组织提取分离试剂盒购于碧云天生物试剂公司,PVDF 膜购于美国 Millipore 公司。

1.1.3　仪器 ELX800UV　酶标仪(美国 Bio-Tec 公司)、DMS2-Morris 水迷宫(中国医学科学院)、Western blot 跑胶装置电源(北京百晶科技公司)、Varioskan LUX 多通道酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、GeneGnome XRQ 化学发光成像仪(英国 SYNGENE 公司)。

1.2　方法

1.2.1　动物筛选及分组　70 只雄性 SD 大鼠,保持室温 25 ℃、清洁环境下以纯净水、标准饲料适应性喂养 30 d,进行 MORRIS 水迷宫实验检测其学习记忆能力。第 1 ~4 天对大鼠的定项航行试验检测大鼠的学习能力项航行试验检测大鼠的学习能力:将Ⅰ ~Ⅳ象限中点作为大鼠入水点,大鼠面向池壁

放入水中,记录大鼠站上平台(第Ⅲ象限)的间(逃避潜伏期),若 60 s 内找到平台即结束实验,若未找到则引导其站至平台上并停留 10 s 结束实验。第 5 天行空间探索实验检测检测大鼠记忆能力:撤除平台,仍从各象限中点作为其入水点,记录其在 60 s 内第 1 次游经平台原位置所需时间(逃避潜伏期),以及 60 s 内大鼠穿越平台目标区域次数、目标象限内停留时间。选取时间,记忆力相近的 SD 大鼠 60 只随机分为假手术组(Sham)、模型组(VaD)、阳性对照组(Nimodipine)、NaSH 低剂量组(Low-NaSH)及 NaSH 高剂量组(High-NaSH),每组 12 只。

1.2.2　VaD 大鼠模型制备　大鼠禁食禁水 10 h,按照 0.3 mL/100 g 体质量的剂量经腹腔注射 10% 水合氯醛进行麻醉,仰卧位固定,颈部备皮,碘伏及 75% 酒精常规消毒,颈前正中线切口,分离暴露双侧颈总动脉,假手术组仅对双侧颈总动脉进行分离操作但不用手术线进行结扎,其他各组均使用手术线永久结扎双侧颈总动脉;手术切口使用青霉素粉喷洒预防伤口感染,缝合皮肤并作常规消毒。常规饮食清洁饲养。

1.2.3　SD 大鼠给药　造模结束后,Nimodipine 组大鼠给予 10 mg/(kg · d)的尼莫地平灌胃给药(5 g/L尼莫地平按 2 mL/kg 剂量给药)、NaSH 低剂量组(Low-NaSH)及 NaSH 高剂量组(High-NaSH)分别 30 μmoL/(kg · d)、100 μmoL/(kg · d) NaSH 灌胃给药(按 2 mL/kg 剂量给药),对模型组和假手术组大鼠用相同剂量的生理盐水(2 mL/kg)进行灌胃,共给药 30 d。

1.2.4　行为学实验　给药 30 d 时,各组分别取 6 只大鼠,按 1.2.1 项下方法检测大鼠学习记忆能力。

1.2.5　样本制备　水迷宫测试结束后进行取材。称重后腹腔注射 10% 水合氯醛(0.45 mL/100 g),麻醉后用 1 × PBS 心脏灌注取脑,冰上分离海马组织,部分用碧云天组织提取试剂盒提取海马胞浆蛋白,部分于 −80 ℃冻存。

1.2.6　CytC 蛋白的表达　采用 Western blot 方法检测, 570 nm 波长下测定胞浆 BCA 蛋白的吸光度值,计算胞浆 BCA 蛋白浓度,以 12 μL/20 μg 体系每孔上样于 12% 的 SDS-PAGE 凝胶,30 mA 恒流进行电泳分离,200 mA 转膜 75 min,一抗 4 ℃孵育过夜,恢复室温孵育 1 h,1 × TBST 洗膜 3 次(10 min/次),二抗孵育 1 h,1 × TBST 洗膜 3 次(10 min/次),于 GeneGnome XRQ 中曝光。β-actin 作为内参。

1.2.7　MDA 含量测定　冻存组织用 1 × PBS 制成 10% 匀浆,12 000 r/min、4℃离心 10 min,取 150 μL 上清液加入 300 μL TBA 检测液中,沸水浴 15 min;同时设置浓度为 1、2、5、10、20、50 μmol/L 的标准品制作标准曲线;1 000 g 室温离心 10 min,取上清 200 μL 置于 96 孔板,Varioskan LUX 多通道酶标仪读取 532 nm 处吸光度值记为 A_{532};用 BCA 蛋白定量法测定样本蛋白浓度记为 $C_{样本}$,结合标准曲线计算组织中 MDA 含量,MDA = [(A_{532} − 0.023 1)/0.049 9] ÷ $C_{样本}$。

1.2.8　SOD 活性测定　冻存组织用 SOD 样本制备液制成 10% 匀浆,12 000 r/min、4 ℃离心 5 min,取上清液 20 μL 置于 96 孔板,加入 WST-8 酶工作液 160 μL 及 20 μL 反应启动液,按说明书设置空白对照 1、空白对照 2、空白对照 3,37 ℃孵育 30 min;Varioskan LUX 多通道酶标仪读取 450 nm、600 nm 处吸光度值,OD_{450nm} − OD_{600nm} 读数即为实测读数 $A_{样本}$;抑制百分率 = [($A_{空白1}$ − $A_{空白2}$) − ($A_{样本}$ − $A_{空白3}$)]/($A_{空白1}$ − $A_{空白2}$),用 BCA 法测定样本蛋白浓度 $C_{样本}$,计算组织中 SOD 活力单位,SOD 活力单位 = [抑制百分率/(1 − 抑制百分率)]/ $C_{样本}$。

1.3　统计学分析

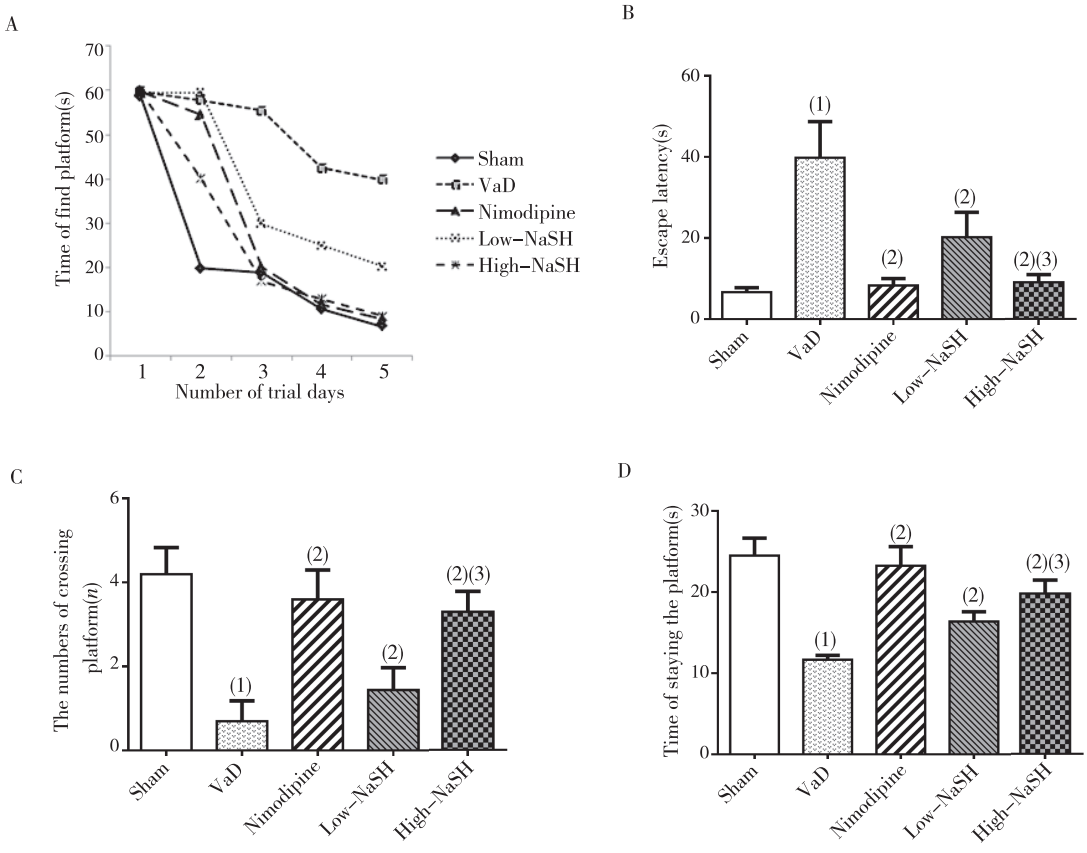
采用 SPSS 13.0 for windows 软件进行数据分析,正态分布结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。数据组间差异的比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *LSD* 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$,$P < 0.05$ 有统计学意义。

2　结果

2.1　学习记忆能力

各组大鼠给药完成后进行 Morris 水迷宫测试,第 1 天 ~4 天的定位航行实验结果(图 1A)显示,Sham 组大鼠的逃避潜伏期随实验天数增加而缩短,VaD 组大鼠逃避潜伏期较 Sham 组长($P < 0.01$)、且随实验天数增加逃避潜伏期变化不明显;Nimodipine 组、Low-NaSH 组、High-NaSH 组大鼠逃避潜伏期较 VaD 组大鼠短($P < 0.01$),且趋势与 Sham 组一致,但 Low-NaSH 组的逃避潜伏期较 Nimodipine 组及 High-NaSH 组长($P < 0.01$);第 5 天的空间探索实验结果显示(见图 1 B ~ D),与

Sham 组比较，VaD 组大鼠的逃避潜伏期显著延长、穿越平台次数显著减少、目标区域活动时间显著降低，差异有统计学意义（$P<0.01$）；表明大鼠 2-VO 术后 30 d 学习记忆能力及定航能力下降；与 VaD 组比较，NaSH 灌胃处理后大鼠的逃避潜伏期显著降低、穿越平台次数显著增加、目标区域活动时间显著延长，差异有统计学意义（$P<0.01$）；与 Low-NaSH 组比较，High-NaSH 组大鼠逃避潜伏期显著缩短、穿越平台次数显著增多、穿越目标区域活动时间显著增加，差异有统计学意义（$P<0.01$）。



注：A 为第 1 ~5 天逃避潜伏期变化，B 为逃避潜伏期，C 为穿越平台次数，D 为目标区域活动时间；(1) 与假手术组比较，$P<0.01$；(2) 与模型组比较，$P<0.01$；(3) 与低剂量组比较，$P<0.01$

图 1　各组大鼠 Morris 水迷宫结果

Fig. 1　The effect of NaSh on learning and memory of rats with VaD

2.2　大鼠海马胞浆 CytC 表达

以 β-actin 做内参蛋白，用 Western bolt 方法检测各组大鼠海马胞浆蛋白中 CytC 表达（见图 2），结果显示，与 Sham 组比较，VaD 组 CytC 表达水平显著升高（$P<0.01$）；与 VaD 组比较，Nimodipine 组、High-NaSH 组 CytC 表达水平显著降低（$P<0.05$），Low-NaSH 组降低最显著（$P<0.01$）。

2.3　大鼠海马组织 MDA 含量

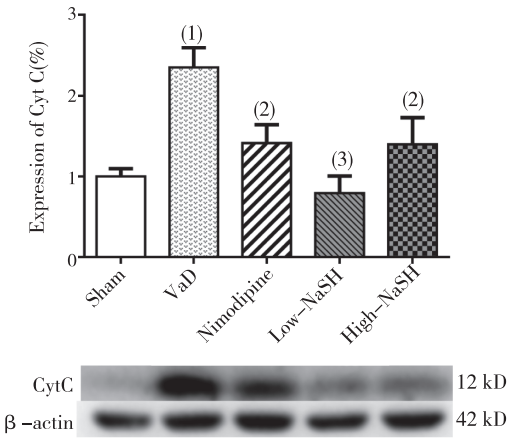
结果（见图 3）显示，与 Sham 组比较，VaD 组 MDA 含量显著升高，差异有统计学意义（$P<0.01$）；与 VaD 组比较，Nimodipine 组、Low-NaSH 组、High-NaSH 组 MDA 含量显著降低，差异有统计学意义（$P<0.01$），High-NaSH 组显著低于 Low-NaSH 组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；提示 NaSH 对 VaD 大鼠的氧化应激损伤有保护作用。

2.4　大鼠海马组织 SOD 酶活性

结果（见图 4）显示，与比较，VaD 组大鼠脑组织 SOD 酶活性显著升高，差异有统计学意义（$P<0.01$）；与 VaD 组比较，Nimodipine 组、Low-NaSH 组、High-NaSH 组大鼠脑组织 SOD 酶活性显著降低，差异有统计学意义（$P<0.01$）。

3　讨论

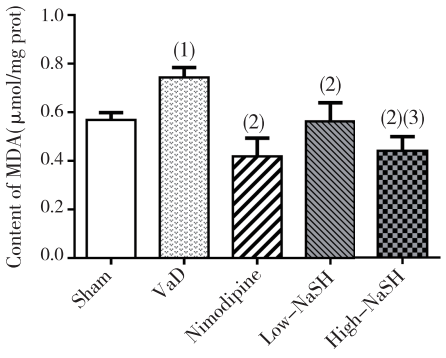
VaD 患病人数占所有老年痴呆人数的 15%，是最常见的老年期痴呆之一[8]。近年来，VaD 的



(1) 与假手术组比较，$P<0.01$；(2) 与模型组比较，$P<0.05$；(3) 与模型组比较，$P<0.01$

图 2　各组大鼠海马胞浆 CytC 蛋白表达(Western bolt)

Fig. 2　The effect of NaSh on Cyt C expression

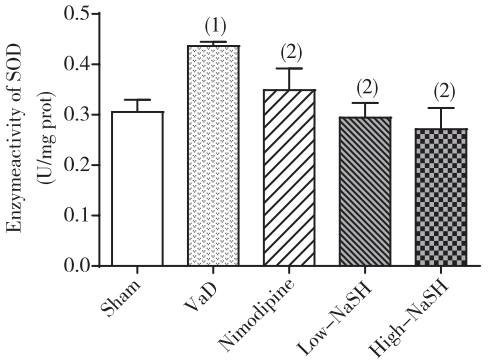


(1) 与假手术组比较，$P<0.01$；(2) 与模型组比较，$P<0.01$；(3) 与低剂量组比较，$P<0.01$

图 3　各组大鼠脑组织中 MDA 含量(TBA 法)

Fig. 3　The effect of NaSh on brain tissue MDA levels of rats with VaD

发病率随中国人口老龄化及生活节奏加快而逐年升高。缺血后慢性低灌注是 VaD 的常见诱因之一，脑卒中后的慢性低灌注导致脑血流量(cerebral blood flow，CBF)降低，缺氧导致氧化应激和引发炎症反应，氧化应激使血管内皮细胞，胶质细胞和神经细胞受损从而导致 CBF 进一步降低进一步减少，这些病理变化发生在大脑并导致 VaD[9]。线粒体是细胞的能量发生器，在能量代谢、电子传递链及氧化磷酸化中起着至关重要的作用。同时还在氧自由基(reactive oxygen species，ROS)的产生中起主要作用，ROS 是细胞信号传导和能量稳态



(1) 与假手术组比较，$P<0.01$；(2) 与模型组比较，$P<0.01$

图 4　各组大鼠脑组织中 SOD 酶的活性(WST-8)

Fig. 4　The effect of NaSh on brain tissue SOD activity of rats with VaD

的重要介质。线粒体膜电位有助于维持线粒体内膜和外膜的质子梯度，有助于腺苷三磷酸(adenosine triphosphate，ATP)的产生。在脑卒中后的慢性低灌注可引发神经系统中神经元细胞内的线粒体发生功能障碍[10]。线粒体损伤导致膜电位去极化，从而影响 ATP 的产生，造成氧化应激[11]，导致细胞内脂质、蛋白质和 DNA 受损，激活各类促凋亡因子和凋亡因子[12]，同时破坏 ROS 产生与细胞抗氧化酶的解毒和清除能力间的稳态，进一步级联放大脑组织内线粒体损伤并进一步加重缺血引起的组织损伤[13-14]。检测脂质过氧化的终产物 MDA 可以有效反映有机体中的氧化应激程度及自由基的含量。由于脑部结构的高脂质，它特别容易受到自由基介导的损伤从而产生脂质过氧化。缺血再灌注发生时线粒体膜通透性转换孔上的硫醇被氧自由基氧化而诱导开放从而导致线粒体膜电位发生去极化[15]。此时 Cyt C 从线粒体内释放至细胞浆中[16]，并引发后续的神经细胞死亡[17]。SOD 作为抗氧化酶之一，其活性具有清除 ROS 的能力，近期的很多研究表明心脏缺血、肝脏缺血、脑缺血均会导致 SOD 活性发生改变，且 SOD 酶活性与脑缺血所致的痴呆密切相关。近年来对 VaD 的发病机制的研究取得了很大的进展，但目前尚无对 VaD 的明确治疗方案。用抗氧化剂，抗炎剂或增加脑灌注的药剂治疗都未达到令人满意的结果。

本研究通过对 SD 大鼠进行双侧颈动脉永久性结扎制作 2-VO 法 VaD 动物模型。2-VO 法可导致大鼠皮质区域整个 CBF 突然减少至 35% ~ 45%，并导致海马中 CBF 减少至 60%[18-19]，能最好的模拟人类衰老及卒中后发生的全脑慢性低灌

注所致的 VaD。从结果可以看出 VaD 大鼠的学习记忆能力及定航能力明显降低,且 VaD 大鼠脑组织中神经元细胞胞浆 Cyt C 表达量显著升高($P<0.01$)、脑组织中 MDA 含量和 SOD 酶活性均显著升高($P<0.01$)。这与 VaD 患者及中动脉闭塞 VaD 大鼠中血清及红细胞中 SOD 含量升高结果相似[20]。线粒体呼吸链酶易受脑缺血损伤,有研究发现在 2-VO 的 VaD 大鼠中,线粒体呼吸链复合酶活性降低,线粒体膜电位发生去极化,同时 ROS 含量升高[21],本研究结果也发现神经元胞浆中 Cyt C 表达量增加,提示大鼠脑缺血后大脑海马神经元细胞发生氧化应激且线粒体受到损伤。课题组前期研究发现 VaD 大鼠血浆 H_2S 含量降低、学习记忆能力受损,NaSH 处理后血浆及脑组织中 H_2S 含量升高且学习记忆能力增强[22],但 H_2S 改善 VaD 大鼠学习记忆能力的作用机制目前尚不明确。本研究结果显示 NaSH 灌胃处理后 VaD 大鼠的学习记忆能力及定航能力都得到改善,且大鼠脑组织中神经元细胞胞浆 Cyt C 表达量降低($P<0.05$)、脑组织中 MDA 含量减少($P<0.01$)、SOD 酶活性降低($P<0.01$),与阳性对照组趋势一致。推测 NaSH 可以通抑制脑缺血损伤造成的氧化应激,改善海马神经元中线粒体功能起到神经元保护作用,从而改善 VaD 大鼠的学习记忆能力。NaSH 高低剂量组间比较,100 μmol/kg NaSH 灌胃给药的 NaSH 高剂量组逃避潜伏期更短、穿越目标区域次数更多、目标区域停留时间更长($P<0.01$),提示高剂量的 NaSH 对 VaD 大鼠的神经保护能力更强,且高剂量组脑组织中脂质氧化水平低于低剂量组($P<0.01$)、说明高剂量 NaSH 处理能较好的降低 VaD 大鼠脑组织中氧化应激水平,但高剂量组海马胞浆中 Cyt C 表达量高于低剂量组,推测可能与大鼠神经细胞中线粒体的动态调节有关。

综上所述,NaSH 作为外源性 H_2S 的供体,可降低 VaD 大鼠脑组织的氧化应激程度,保护神经元细胞中线粒体功能,从而对神经元发挥保护作用,对于 VaD 的大鼠模型有很好的治疗作用。高剂量 NaSH 灌胃处理比低剂量 NaSH 对 VaD 大鼠学习记忆及定航能力有更好的改善作用,可能与高剂量 NaSH 能更好的改善 VaD 中线粒体损伤有关,但其中具体作用机制仍有待进一步研究。

4　参考文献

[1] IADECOLA C. The pathobiology of vascular dementia [J]. Neuron, 2013,80(4): 844 - 866.

[2] KALARIA R N. The pathology and pathophysiology of vascular dementia[J]. Neuropharmacology, 2018, 134: 226 - 239.

[3] FIORUCCI S, DISTRUTTI E, CIRINO G, et al. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver [J]. Gastroenterology, 2006, 131: 259 - 271.

[4] LO FARO M L, FOX B, WHATMORE J L, et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation[J]. Nitric Oxide, 2014, 41(15):38 - 47.

[5] CALVERT J W, JHA S, GUNDEWAR S, et al. Hydrogen sulfide mediates cardioprotection through Nrf2 signaling [J]. Circulation Research, 2009, 105(4): 365 - 374.

[6] WANG Y, JIA J, AO G, et al. Hydrogen sulfide protects blood-brain barrier integrity following cerebral ischemia [J]. Journal of Neurochemistry, 2014, 29 (5): 827 - 838.

[7] LUO Y, YANG X, ZHAO S, et al. Hydrogen sulfide prevents OGD/R-induced apoptosis via improving mitochondrial dysfunction and suppressing an ROS-mediated caspase-3 pathway in cortical neurons[J]. Neurochemistry International, 2013, 63(8):826 - 831.

[8] JOHN T B, ALAN T. Vascular dementia[J]. The Lancet, 2015,386(10004): 1698 - 1706.

[9] VENKAT P, CHOPP M, CHEN J. Models and mechanisms of vascular dementia[J]. Experimental Neurology, 2015,272:97 - 108.

[10] ZHU Q L, LI Y X, ZHOU R, et al. Neuroprotective effects of oxysophocarpine on neonatal rat primary cultured hippocampal neurons injured by oxygen-glucose deprivation and reperfusion [J]. Cell Mol Neurobiol, 2018,38(2):529 - 540.

[11] WANG S, LI Y, SONG X, et al. Febuxostat pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via mitochondrial apoptosis [J]. Journal of Translational Medicine, 2015, 13:209.

[12] HAILE W B, ECHEVERRY R, WU F, et al. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and fibroblast growth factor-inducible 14 mediate cerebral ischemia-induced poly (ADP-ribose) polymerase-1 activation and neuronal death. [J]. Neuroscience, 2010, 171(4): 1256 - 1264.

[13] DOYLE K P, SIMON R P, STENZELPOORE M P. Mechanisms of ischemic brain damage. [J]. Neuropharmacology, 2008, 55(3):310 - 318.

(下转第 405 页)