

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0940

文章编号 1671-8852(2026)03-0285-07

乳酸钠通过调控铁死亡改善高糖高脂诱导的 AC16 心肌细胞损伤

刘颖 余嘉彬 姚琪 张亚丹 肖杨 唐其柱

武汉大学人民医院心血管内科/代谢与相关慢病湖北省重点实验室 湖北 武汉 430060

摘要 目的:本研究旨在探讨乳酸钠(NALA)对高糖高脂诱导的 AC16 心肌细胞毒性的作用及其机制。方法:实验采用 AC16 心肌细胞,分为对照组、模型组(高糖+棕榈酸)、高糖+棕榈酸+低浓度 NALA 组、高糖+棕榈酸+高浓度 NALA 组以及高糖+棕榈酸+铁死亡抑制剂(Ferrostatin-1)组。通过 CCK-8 试剂盒检测细胞活性,油红 O 染色和 BODIPY 493/503 荧光染色评估脂质沉积,DCFH-DA 法检测细胞活性氧(ROS)含量,亚铁离子荧光探针(FerroOrange)检测铁沉积以及 Western Blot 实验分析蛋白表达水平。结果:随着棕榈酸浓度的升高,AC16 心肌细胞的生存率逐渐降低,最终选用 $300\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的棕榈酸浓度和 $4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ D-葡萄糖浓度建立 2 型糖尿病细胞模型。NALA 在 10 和 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度对细胞增殖和活性没有影响,而 $30\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NALA 则明显影响细胞增殖($P<0.05$),因此选用 10 和 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NALA 为低浓度和高浓度治疗组。油红 O 染色和 BODIPY 493/503 标记结果显示,NALA 能够减轻高糖高脂诱导的脂质堆积($P<0.05$)。DCFH-DA 染色显示,NALA 能够显著降低高糖高脂处理的 AC16 心肌细胞 ROS 产生($P<0.05$);FerroOrange 染色显示,NALA 可以降低高糖高脂诱导的细胞中亚铁离子水平($P<0.05$)。Western Blot 结果显示,NALA 显著恢复了高糖高脂处理的 AC16 心肌细胞中抗氧化蛋白 Nrf2、HO-1 的含量($P<0.05$),并调控了铁死亡相关蛋白 SLC7A11 和 ACSL4 的表达($P<0.05$)。结论:乳酸钠通过调控细胞铁死亡改善高糖高脂诱导的 AC16 心肌细胞毒性,为糖尿病心肌病的治疗提供了新的思路和方法。

关键词 乳酸钠;脂质过氧化;铁死亡;糖尿病心肌病

中图分类号 R54

文献标志码 A

Lactate sodium regulates ferroptosis to ameliorate high glucose and high-fat-induced damage in AC16 cardiomyocytes

LIU Ying, YU Jiabin, YAO Qi, ZHANG Yadan, XIAO Yang, TANG Qizhu

Department of Cardiovascular Medicine, Renmin Hospital of Wuhan University & Hubei Provincial
Key Laboratory of Metabolism and Related Chronic Diseases, Wuhan 430060, Hubei, China

Abstract

Objective: To explore the effects of sodium lactate (NALA) on high glucose and high-fat-induced toxicity in AC16 cardiomyocytes and its underlying mechanisms. **Methods:** AC16 cardiomyocytes were utilized in the experiment and categorized into a control group, a model group (exposed to high glucose + palmitic acid), a high glucose + palmitic acid + low-concentration NALA group, a high glucose + palmitic acid + high-concentration NALA group, and a high glucose + palmitic acid + ferroptosis inhibitor (Ferrostatin-1) group. Cell viability was assessed using the CCK-8 kit, lipid deposition was evaluated through Oil Red O staining and BODIPY 493/503 fluorescent staining, cel-

课题来源:国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目(编号:U22A20269)。

作者简介:刘颖,女,2000—,医学硕士生,主要从事心血管疾病的研究,E-mail:lybp0712@163.com。

通信作者:唐其柱,E-mail:qztang@whu.edu.cn。

lular reactive oxygen species (ROS) levels were detected using the DCFH-DA method, iron deposition was measured with a ferrous ion fluorescent probe (FerroOrange), and protein expression levels were analyzed via Western Blot experiments. **Results:** With increasing concentrations of palmitic acid, the survival rate of AC16 cardiomyocytes gradually decreased, ultimately leading to the establishment of a type 2 diabetic cellular model using $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ palmitic acid and $4.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose. NALA at concentrations of 10 and $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ had no impact on cell proliferation and viability, whereas $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NALA significantly affected cell proliferation ($P<0.05$). Therefore, 10 and $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NALA were selected as the low-concentration and high-concentration treatment groups, respectively. Oil Red O staining and BODIPY 493/503 labeling results indicated that NALA was able to alleviate high glucose and high-fat-induced lipid accumulation ($P<0.05$). DCFH-DA staining showed that NALA significantly reduced ROS production in AC16 cardiomyocytes treated with high glucose and high fat ($P<0.05$). FerroOrange staining revealed that NALA decreased the levels of ferrous ions in cells induced by high glucose and high fat ($P<0.05$). Western Blot results demonstrated that NALA significantly restored the contents of Nrf2 and HO-1 in AC16 cardiomyocytes treated with high glucose and high fat ($P<0.05$) and regulated the expression of ferroptosis-related proteins SLC7A11 and ACSL4 ($P<0.05$). **Conclusion:** Sodium lactate improves high glucose and high-fat-induced toxicity in AC16 cardiomyocytes by regulating ferroptosis, providing novel insights and approaches for the treatment of diabetic cardiomyopathy.

Key Words Sodium Lactate; Lipid Peroxidation; Ferroptosis; Diabetic Cardiomyopathy

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)的发病机制比较复杂,虽然 DCM 的基础研究和临床试验在近几十年取得显著进展,但医学界对其复杂的发病机制仍未能完全解析,核心病理环节尚存诸多未解之谜。近年来,铁死亡作为一种关键的调节性细胞死亡方式,在 DCM 的发病过程中逐渐受到重视^[1]。铁死亡由细胞内铁过载和脂质过氧化物积累所触发,导致细胞死亡^[2]。在 DCM 中,铁过载促进了多不饱和脂肪酸进入细胞膜,增加了脂质过氧化物的积累,进而引发氧化还原失衡,最终诱导铁死亡的发生^[3]。乳酸作为心脏重要能量来源^[4]。乳酸钠(lactate sodium, NALA),化学式为 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$,分子质量为 112.06 U,是一种无色或几乎无色的透明液体,其可以作为外源性的乳酸接受体,参与乳酸的代谢过程。在心脏手术中,使用外来的乳酸已经被证实能够提升心脏的工作能力,而且被证明是安全且人体能够良好接受的^[5]。输注乳酸对低血糖、创伤性脑损伤和心脏衰竭将会带来益处,而不会引致严重副作用^[6]。本研究通过观察 NALA 对细胞脂质的积累、细胞活性氧的产生、亚铁离子的含量以及调控铁死亡相关蛋白的影响探讨 NALA 对高糖高脂诱导的 AC16 心肌细胞毒性的作用以及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料 NALA 购于 MCE 公司;AC16 人心肌细胞系(中国科学院上海细胞库)。细胞培养相关试剂包括:DMEM/F12 基础培养基(C1133050 0BT)、胎牛血清(FBS, 10099)及 RIPA 裂解液(89900,均购自 Thermo Fisher)。Western Blot 检测使用 CST 公司抗体:Nrf2 (#12721)、HO-1 (#70081)、SLC7A11(#98051)、ACSL4(#91802)及 β -Tubulin (#2146)。细胞活性与氧化应激指标分别采用碧云天 CCK-8 试剂盒(C0037)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒测定,亚铁离子动态监测使用集麟生物 FerroOrange 探针。

1.2 细胞培养 AC16 心肌细胞购自中国科学院上海细胞库,储存于液氮中。复苏后,使用含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM/F12 培养基培养,置于 5% CO_2 、37 °C 的培养箱中。

1.3 细胞分组及造模 当细胞密度增至 90% 时,采用胰酶进行消化并进行传代。在传代后的 24 h,对各实验组的细胞实施 12 h 的饥饿处理以实现同步化。本次实验共设计 5 组,具体分组情况如下:

(1)对照组:采用正常的 DMEM/F12 完全培养基进行细胞培养。(2)模型组:使用含有 $4.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ D-葡萄糖的 DMEM 完全培养基,将棕榈酸(PA)稀

释至终浓度为 $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并与细胞联合培养 24 h。(3)高糖+棕榈酸+低浓度 NALA(NALA-L)组: 在模型组的培养液中, 额外加入低浓度 ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 NALA, 与细胞共同培养 24 h。(4)高糖+棕榈酸+高浓度 NALA(NALA-H)组: 同样在模型组的培养液中, 但加入的是高浓度 ($20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 NALA, 与细胞共同培养 24 h。(5)高糖+棕榈酸+铁死亡抑制剂(Ferrostatin-1)组: 在模型组的培养液中, 加入 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Ferrostatin-1, 与细胞共同培养 24 h。以上各组实验均按照既定方案进行, 以确保实验结果的准确性和可比性。

1.4 药物毒性检测

1.4.1 棕榈酸毒性检测 采用 CCK-8 法系统评估细胞活力。将生长状态稳定的 AC16 细胞经胰酶消化制备单细胞悬液, 以每孔 1×10^4 密度接种于 96 孔板(每孔 $100\ \mu\text{L}$)。经 24 h 贴壁培养后, 进行 12 h 无血清同步化处理, 继而分别给予梯度浓度棕榈酸 ($0\sim 1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 干预 24 h/48 h。严格参照试剂说明书, 设置 6 复孔/浓度组, 于酶标仪 450 nm 波长测定光密度值(OD 值), 建立剂量-时间效应关系曲线。

1.4.2 NALA 毒性检测 对 AC16 细胞施加不同浓度梯度 ($0, 5, 10, 20, 40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 NALA 处理, 持续时间为 24 h。所采用的检测手段及其操作流程均遵循 1.4.1 中所述的标准方法。

1.5 油红 O 脂肪染色法 将 AC16 细胞接种至 24 孔板, 并在 $37\ ^\circ\text{C}$ 、含 $5\%\text{CO}_2$ 的恒温培养箱中预培养 24 h。随后, 根据 1.2 项所述的方法对细胞进行分组并施加药物处理, 每组设立 4 个重复孔, 继续在相同的培养条件下进行模型建立。之后, 移除孔板内的培养基, 细胞样本经预冷 PBS 缓冲液 ($\text{pH} 7.4$) 进行 3 次梯度漂洗(每次 5 min), 随后浸渍于 4% 多聚甲醛固定液 ($0.1\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 配制)中, 于 $4\ ^\circ\text{C}$ 条件下实施 20 min 固定化处理。固定完成后采用同体系 PBS 进行透化前清洗。固定完成后, 吸去多聚甲醛, 再次以 PBS 清洗细胞 3 次。接下来, 向每个孔中加入 $200\ \mu\text{L}$ 的油红 O 工作液(该工作液由原液与双蒸水按 3:2 的比例配制, 并通过 $0.25\ \mu\text{m}$ 的滤纸过滤), 室温下孵育 15 min。孵育结束后, 吸去孔板中的油红 O 工作液, 并以 PBS 彻底清洗, 直至无多余染料残留。之后, 对细胞核进行复染, 并在倒置显微镜下观察细胞的油红 O 染色情况, 同时拍摄照片以记录实验结果。

1.6 DCFH-DA 法检测细胞 ROS 含量 将细胞铺

于 24 孔板, 细胞贴壁后, 饥饿 12 h, 按 1.3 项下方法分组给药, 24 h 后加入 1:1 000 稀释的 DCFH-DA 荧光探针, 在培养箱内孵育 30 min, 用无血清培养基冲洗, 置于荧光显倒置显微镜下观察、拍照。

1.7 FerroOrange 染色 将细胞接种于 24 孔板, 按分组进行处理, 加入浓度 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 FerroOrange 工作液, 孵育 30 min 后使用荧光显微镜拍摄图片。

1.8 Western Blot 实验 来自细胞的蛋白质样品在含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的缓冲液中进行裂解, 随后通过 $8\%\sim 10\%$ 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)进行分离, 并转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。封闭后, 将膜于 $4\ ^\circ\text{C}$ 条件下与一抗孵育过夜。次日, 用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后, 膜在室温下与相应的二抗孵育 1 h, 然后再用 Tris 缓冲盐水吐温(TBST)洗涤 3 次。将膜与 ECL 试剂(Bio-Rad 170-5061)孵育后, 使用增强型化学发光(ECL)检测系统检测印迹信号。利用 Image J 软件对显影后的蛋白条带进行分析, 并以 β -Tubulin 作为内参蛋白, 以评估目标蛋白的相对表达水平。

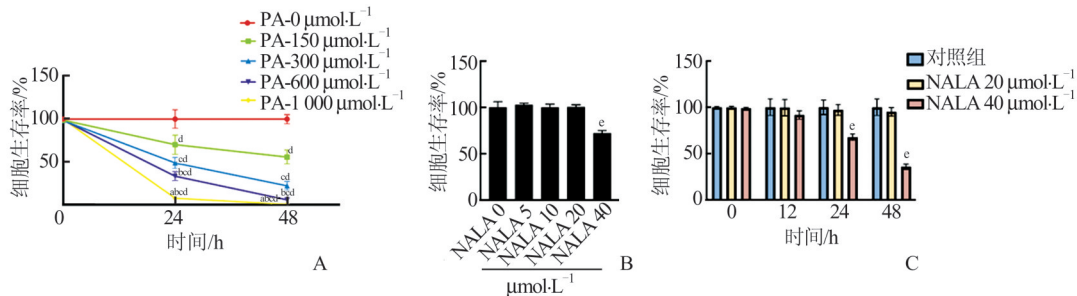
1.9 统计学处理 实验数据以均数 $\pm$ 标准差表示, 使用 GraphPad Prism 9.1 软件进行统计学分析, 两组样本间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞生存率 在 $4.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ D-葡萄糖构建的高糖环境中, AC16 人心肌细胞暴露于梯度浓度棕榈酸 ($0\sim 1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 后呈现明显的生存能力改变。实验数据显示细胞活性与棕榈酸浓度呈负相关, 当剂量达到 $500\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时即可观察到统计学显著的细胞活性抑制 ($P<0.05$)。值得注意的是, 最高浓度组 ($1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 表现出极强细胞毒性, 导致心肌细胞基本丧失存活能力。这一结果如图 1A 所示。基于这些发现, 我们最终选定 $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棕榈酸与 $4.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ D-葡萄糖高糖浓度作为构建 2 型糖尿病细胞模型的条件。在对比实验中, 我们发现与对照组相比, NALA 在 10 和 $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对细胞增殖和活性无显著影响, 而 $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NALA 则对细胞增殖产生了明显作用, 这一结果如图 1B 所示。因此, 我们分别选择了 10 和 $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NALA 作为低浓度和高浓度治疗

组进行后续研究。此外,我们还探讨了不同浓度 NALA(0、20、40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)在不同时间点(0、24、48 h)对细胞增殖的影响。结果显示,40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NALA 在刺激 24 和 48 h 后显著抑制了 AC16 人心

肌细胞的增殖($P<0.05$),这一结果如图 1C 所示。综合以上结果,我们最终选择了 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棕榈酸联合 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NALA 刺激 24 h 的条件进行后续的实验研究。



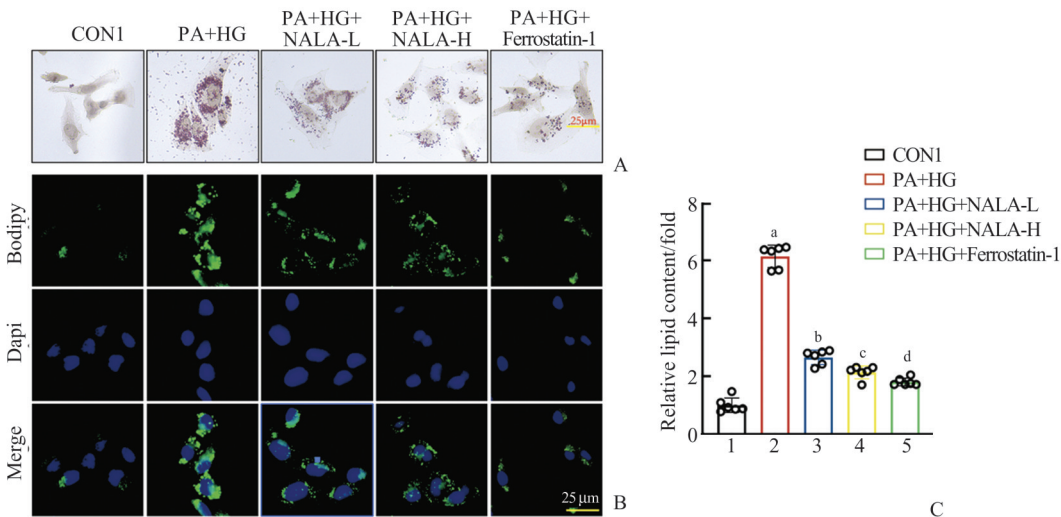
A. 不同浓度棕榈酸(PA)对细胞活性的影响;B. 不同浓度 NALA 对细胞活性的影响;C. 不同时间点、不同浓度 NALA 对细胞活性的影响。与棕榈酸 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较,^a $P<0.05$;与棕榈酸 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较,^b $P<0.05$;与棕榈酸 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较,^c $P<0.05$;与对照组比较,^d $P<0.05$;与 NALA 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较,^e $P<0.05$ 。

图 1 细胞活性测定

2.2 NALA 对 AC16 细胞 DCM 模型脂质沉积的影响

2.2.1 油红 O 染色 除对照组外,其余四组均有不同的程度脂质堆积,模型组相较于对照组,脂滴面积明显增高;NALA-L 组与 NALA-H 组相比,脂滴面积增加,但是又较于模型组减少(均 $P<0.05$),使用铁死亡抑制剂则会明显改善脂滴的堆积。见图 2A 和图 2C。

2.2.2 BODIPY 493/503 标记 与对照组相比,模型组 BODIPY 493/503 标记的绿色荧光信号逐渐增加,面积逐渐增大,表明脂滴数量与面积增多;与模型组相比,NALA 治疗组的绿色荧光信号显著减少,表明脂滴数量与面积减少($P<0.05$);使用铁死亡抑制剂则会明显改善脂滴的堆积,与油红 O 染色的结果相同。见图 2B。

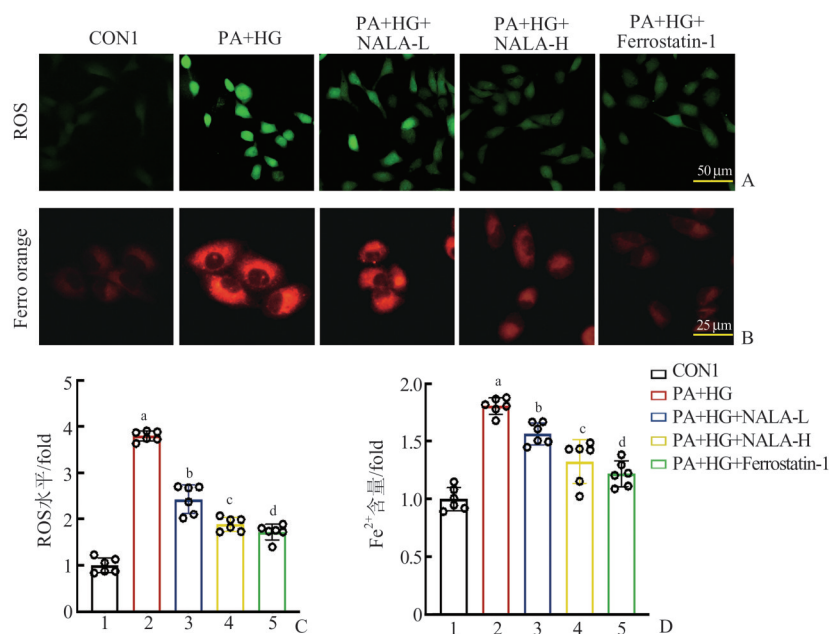


A. 油红 O 染色;B. BODIPY 493/503 染色;C. 油红 O 染色定量分析。与对照组(CON1)比较,^a $P<0.05$;与模型组(PA+HG)比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.05$,^d $P<0.05$ 。

图 2 心肌细胞内脂滴染色情况

2.3 NALA 对 AC16 细胞 DCM 模型 ROS、亚铁离子含量的影响 DCFH-DA 染色显示,高糖高脂处理后 AC16 心肌细胞 ROS 产生明显增加;与对照组相比,模型组 ROS 荧光信号显著升高($P<0.05$);与模型组相比,NALA-L 组和 NALA-H 组的 ROS

水平显著降低($P<0.05$),并且高浓度治疗组 ROS 水平较低浓度治疗组下降明显,见图 3A 和 3C。同时,模型组的亚铁离子水平也显著增高($P<0.05$),并且 NALA 治疗组和 Ferrostatin-1 组能够明显抑制高糖高脂诱导的亚铁离子升高,见图 3B 和 3D。



A. ROS荧光成像;B. FerroOrange染色图像;C. 细胞内ROS定量水平;D. 细胞内Fe²⁺的定量水平。与对照组(CON1)比较,^a $P<0.05$;与模型组(PA+HG)比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.05$,^d $P<0.05$ 。

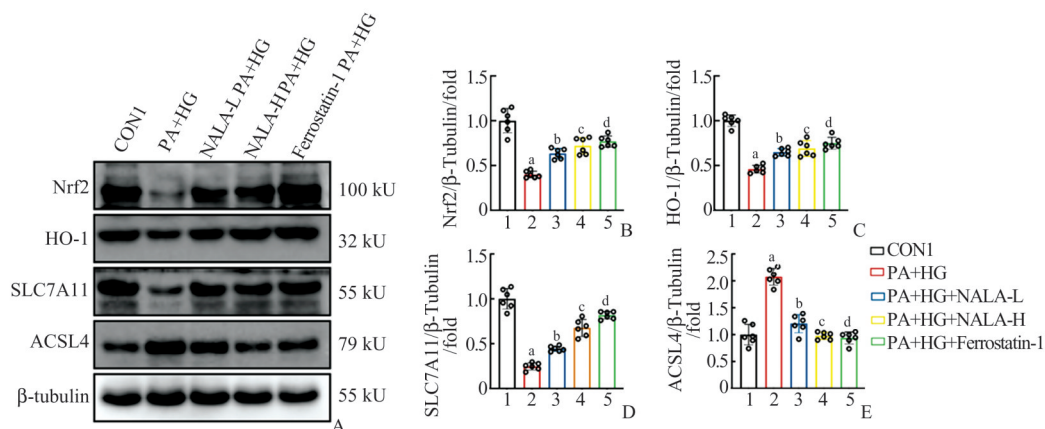
图3 NALA对AC16细胞DCM模型ROS、亚铁离子含量的影响

2.4 NALA对AC16细胞DCM模型Nrf2、HO-1、SLC7A11和ACSL4蛋白表达水平的影响 Western Blot结果显示,与对照组相比,模型组的AC16心肌细胞Nrf2、HO-1明显降低($P<0.05$);而与模型组相比,NALA-L组和NALA-H组显著恢复了细胞中Nrf2、HO-1的含量(均 $P<0.05$,见图4)。这一结果表明,NALA可能是通过Nrf2/HO-1通路发挥对AC16心肌细胞的保护作用。与对照组相比,模型组SLC7A11表达明显降低,ACSL4表达明显增高(均 $P<0.05$);与模型组相比,NALA-L组和NALA-H组SLC7A11表达水平显著升高,ACSL4蛋白表达

水平显著降低(均 $P<0.05$);并且Ferrostatin-1组也表现出相同的趋势($P<0.05$),见图4A、4D和4E,这表明NALA可能影响铁死亡相关蛋白的表达。

3 讨论

在本次研究中,我们发现 $300\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棕榈酸联合含 $4.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ D-葡萄糖高糖培养基可显著诱导AC16人心肌细胞氧化应激,脂质沉积以及铁死亡。具体表现为细胞内活性氧的聚集,脂质的堆积以及调控铁死亡相关蛋白的改变。给予NALA能够显著下调棕榈酸和高糖诱导的活性氧的产生,脂质沉



A. Nrf2、HO-1、SLC7A11、ACSL4表达条带(Western Blot);B. Nrf2表达定量;C. HO-1表达定量;D. SLC7A11表达定量;E. ACSL4表达定量。与对照组(CON1)比较,^a $P<0.05$;与模型组(PA+HG)比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.05$,^d $P<0.05$ 。

图4 Nrf2、HO-1、SLC7A11和ACSL4检测与定量分析

积以及细胞铁死亡。

维持乳酸稳态对心脏功能至关重要。乳酸是由丙酮酸在厌氧糖酵解过程中产生的,特别是在高强度运动或氧气供应受限的情况下^[7-8]。尽管传统观念多认为乳酸对心血管系统具有不利影响,例如,血液中乳酸水平升高被视为心力衰竭患者预后不佳的标志^[9-10],且循环中的乳酸水平对于预测心肌梗死患者的不良临床结局具有重要的预后价值^[11-12]。此外,外源性乳酸还被发现能通过上调组蛋白赖氨酸乙酰化(histone lysine lactylation, HK1a)的表达来促进心肌肥厚^[13]。但近年来的研究^[14]表明,外源性补充NALA能够显著改善血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)诱导的心力衰竭小鼠的心脏功能,包括提高心脏射血分数(EF)和短轴缩短率(FS),并表现出显著的心肌纤维化保护作用。并且外源性NALA给药提高甲基CpG结合蛋白2上的赖氨酸发生乳酸化修饰(mecp2 lysine lactylation, Mecp2k271la)的水平,也会抑制内皮细胞(ECs)中表皮调节素(Epiregulin, Ereg)的表达和MAPK活性,从而抑制动脉粥样硬化的进展^[15]。与此一致,我们研究发现,NALA可以显著改善棕榈酸联合高糖培养基诱导的氧化应激水平以及脂质沉积。

糖尿病心肌病(DCM)作为一种复杂的非血管性心肌功能障碍^[16],其发病机理涉及多种代谢和信号通路的异常。随着糖尿病的发作,全身升高的葡萄糖水平增加了在心脏细胞外基质中积累的晚期糖基化终产物(AGEs)的产生^[17],心肌细胞的代谢转变增加了脂肪酸的利用,导致细胞内脂质积累和相关的脂毒性^[18]。年龄积累和细胞内脂质积累都会导致活性氧和氮的过量产生,从而启动DCM的发病机制^[19-20]。而脂质过氧化及炎症反应可诱发细胞发生一种新型的非调节性细胞死亡方式——铁死亡^[21]。越来越多的证据表明,糖尿病患者的铁超载不仅会增加胰岛素抵抗和糖尿病进展的风险,还会通过芬顿反应加重心血管并发症^[22-24]。NRF2是抗氧化反应的关键调节因子,系统Xc-GSH-GPX4通路是目前已知的铁死亡的主要预防系统,谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)作为该系统的调控核心酶,抑制它的表达则可导致铁死亡加重^[25]。Nrf2/HO-1通路对于心血管疾病极其重要,其不仅是抗氧化应激的重要通路^[26],还被证实通过上调铁蛋白从而缓解心肌细胞铁死亡^[27]。基于上述脂质蓄积特征,本研究提出科学假设:NALA可能通过靶向调控此信号通路,有效拮抗棕榈

酸协同高糖刺激建立的AC16心肌细胞铁死亡病理进程。我们的研究发现,AC16人心肌细胞暴露于棕榈酸($300\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和高糖培养基($4.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ D-葡萄糖)时,细胞活力降低,发生铁死亡并伴随细胞内亚铁离子浓度增加以及铁死亡标志物SLC7A11、ACSL4的表达变化;给予NALA可以显著抑制棕榈酸联合高糖培养基诱导的AC16人心肌细胞铁死亡的发生以及发展。并且棕榈酸联合高糖培养基诱导后,AC16人心肌细胞中Nrf2、HO-1相关蛋白表达水平明显增高,而当外源性补充NALA后,Nrf2、HO-1相关蛋白表达水平显著下降,这与前述结果一致,这表明NALA可能激活Nrf2/HO-1通路发挥调控作用。

综上所述,我们的实验证明,NALA可以改善高糖高脂诱导的AC16人心肌细胞铁死亡,其机理可能是通过激活Nrf2/HO-1以及调控铁代谢相关蛋白来发挥作用。后续我们将进行动物实验,进一步深入研究NALA的作用机制,并探索其在DCM等心血管疾病中的临床应用价值,为心血管疾病的治疗提供新的思路和方法。



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

参考文献

- [1] FANG X, ARDEHALI H, MIN J, et al. The molecular and metabolic landscape of iron and ferroptosis in cardiovascular disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(1): 7-23.
- [2] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282.
- [3] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [4] GERTZ E W, WISNESKI J A, STANLEY W C, et al. Myocardial substrate utilization during exercise in humans. Dual carbon-labeled carbohydrate isotope experiments [J]. *J Clin Invest*, 1988, 82(6): 2017-2025.
- [5] MUSTAFA I, LEVERVE X M. Metabolic and hemodynamic effects of hypertonic solutions: Sodium-lactate versus sodium chloride infusion in postoperative patients [J]. *Shock*, 2002, 18(4): 306-310.
- [6] VAN GEMERT L A, DE GALAN B E, WEVERS R A, et al. Lactate infusion as therapeutic intervention: A scoping review [J]. *Eur J Pediatr*, 2022, 181(6): 2227-2235.
- [7] OUYANG J, WANG H, HUANG J. The role of lac-

- tate in cardiovascular diseases [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 317.
- [8] WU P, ZHU T, HUANG Y, et al. Current understanding of the contribution of lactate to the cardiovascular system and its therapeutic relevance [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1205442.
- [9] BIEGUS J, ZYMLIŃSKI R, SOKOLSKI M, et al. Elevated lactate in acute heart failure patients with intracellular iron deficiency as identifier of poor outcome [J]. *Kardiol Pol*, 2019, 77(3): 347-54.
- [10] ZYMLIŃSKI R, BIEGUS J, SOKOLSKI M, et al. Increased blood lactate is prevalent and identifies poor prognosis in patients with acute heart failure without overt peripheral hypoperfusion [J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(6): 1011-1018.
- [11] VERMEULEN R P, HOEKSTRA M, NIJSTEN M W, et al. Clinical correlates of arterial lactate levels in patients with ST-segment elevation myocardial infarction at admission: A descriptive study [J]. *Crit Care*, 2010, 14(5): R164.
- [12] GJESDAL G, BRAUN O, SMITH J G, et al. Blood lactate is a predictor of short-term mortality in patients with myocardial infarction complicated by heart failure but without cardiogenic shock [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 8.
- [13] ZHAO S S, LIU J, WU Q C, et al. Lactate regulates pathological cardiac hypertrophy via histone lactylation modification [J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(16): e70022.
- [14] FANG L, YU Z, QIAN X, et al. LDHA exacerbates myocardial ischemia-reperfusion injury through inducing NLRP3 lactylation [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2024, 24(1): 651.
- [15] WANG Y, CHEN L, ZHANG M, et al. Exercise-induced endothelial Mecp2 lactylation suppresses atherosclerosis via the Ereg/MAPK signalling pathway [J]. *Atherosclerosis*, 2023, 375: 45-58.
- [16] PARK J J. Epidemiology, Pathophysiology, diagnosis and treatment of heart failure in diabetes [J]. *Diabetes Metab J*, 2021, 45(2): 146-157.
- [17] BRUNVAND L, HEIER M, BRUNBORG C, et al. Advanced glycation end products in children with type 1 diabetes and early reduced diastolic heart function [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2017, 17(1): 133.
- [18] PALOMER X, SALVADÓ L, BARROSO E, et al. An overview of the crosstalk between inflammatory processes and metabolic dysregulation during diabetic cardiomyopathy [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(4): 3160-3172.
- [19] CAI L, KANG Y J. Oxidative stress and diabetic cardiomyopathy: A brief review [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2001, 1(3): 181-193.
- [20] WILSON A J, GILL E K, ABUDALO R A, et al. Reactive oxygen species signalling in the diabetic heart: Emerging prospect for therapeutic targeting [J]. *Heart*, 2018, 104(4): 293-299.
- [21] LEI P, BAI T, SUN Y. Mechanisms of ferroptosis and relations with regulated cell death: A review [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 139.
- [22] SWAMINATHAN S, FONSECA V A, ALAM M G, et al. The role of iron in diabetes and its complications [J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(7): 1926-1933.
- [23] LIU Q, SUN L, TAN Y, et al. Role of iron deficiency and overload in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(1): 113-129.
- [24] WHITE D L, COLLINSON A. Red meat, dietary heme iron, and risk of type 2 diabetes: The involvement of advanced lipoxidation endproducts [J]. *Adv Nutr*, 2013, 4(4): 403-411.
- [25] ZHENG J, CONRAD M. The metabolic underpinnings of ferroptosis [J]. *Cell Metab*, 2020, 32(6): 920-937.
- [26] ZANG H, MATHEW R O, CUI T. The dark side of Nrf2 in the heart [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 722.
- [27] WANG X, CHEN X, ZHOU W, et al. Ferroptosis is essential for diabetic cardiomyopathy and is prevented by sulforaphane via AMPK/NRF2 pathways [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(2): 708-722.

(2024-12-08 收稿)

编辑 孙孝云