

## 2-DG 阻断乳酸生成对 HT22 神经元低氧性损伤的影响及其机制\*

胡月<sup>1,2</sup>, 史子毕<sup>2</sup>, 阮倩倩<sup>2</sup>, 耿亚楠<sup>2</sup>, 成祥<sup>2</sup>, 赵名<sup>2Δ</sup>, 朱玲玲<sup>1,2Δ</sup>

(1. 安徽医科大学生命科学院, 合肥 230032; 2. 军事科学院军事医学研究院军事认知与脑科学研究所, 北京 100850)

**【摘要】 目的:** 探讨阻断乳酸生成对神经元 HT22 低氧性损伤的影响。**方法:** 2-脱氧-D-葡萄糖(2-DG)是一种不可代谢的葡萄糖类似物,可通过阻断糖酵解过程而抑制乳酸生成。将 HT22 细胞分为 4 组:对照组、2-DG 组、Hypoxia 组和 2-DG+Hypoxia 组。对照组与 2-DG 处理组放置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养, Hypoxia 组与 2-DG+Hypoxia 组放置于低氧培养箱中培养。2-DG 浓度为 2.5、5 mmol/L, 氧气浓度为 0.3%, 处理时间为 24 h。CCK-8 法检测细胞活性, 分光光度法检测细胞培养液中乳酸含量, 荧光染色观察细胞形态, 流式细胞术检测活性氧(ROS), 酶活性试剂盒测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性, 蛋白印迹(Western blot)检测 p-p38、t-p38 和 β-actin 的蛋白表达水平的变化。**结果:** 与对照组相比, 2-DG 组培养液乳酸水平与细胞活性明显降低( $P<0.01$ ), 贴壁细胞数量减少, ROS 水平升高( $P<0.01$ ), CAT 酶活性降低( $P<0.05$ )。Hypoxia 组中培养液的乳酸水平明显增加( $P<0.01$ ), 细胞活性降低( $P<0.01$ ), 贴壁细胞数量减少, ROS 水平升高( $P<0.01$ ), CAT、SOD 酶活性降低( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ), 2-DG+Hypoxia 组乳酸水平显著降低( $P<0.05$ ), 细胞活性显著降低( $P<0.01$ ), 细胞数量与贴壁能力明显减弱, ROS 水平显著升高( $P<0.01$ ), CAT、SOD 酶活性显著降低( $P<0.01$ ), p-p38 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ ), t-p38 没有变化。与 Hypoxia 组比较, 2-DG+Hypoxia 组能够抑制低氧诱导的乳酸水平升高( $P<0.01$ ), 细胞活性显著降低( $P<0.01$ ), ROS 水平显著升高( $P<0.01$ ), CAT 的酶活性显著降低( $P<0.01$ )。**结论:** 阻断乳酸生成可降低低氧下细胞活性水平, 加重 HT22 细胞氧化应激损伤, 其机制可能通过升高 ROS 水平、激活 p38 信号通路。

**【关键词】** 乳酸; 神经元; 低氧; 氧化应激

**【中图分类号】** R338.2

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1000-6834(2024)01-017-005

**【DOI】** 10.12047/j.cjap.6276.2022.075

## Effects of blocking lactate production by 2-DG on hypoxic injury of HT22 neurons and its mechanisms

HU Yue<sup>1,2</sup>, SHI Zi-bi<sup>2</sup>, RUAN Qian-qian<sup>2</sup>, GENG Ya-nan<sup>2</sup>, CHENG Xiang<sup>2</sup>,  
ZHAO Ming<sup>2Δ</sup>, ZHU Ling-ling<sup>1,2Δ</sup>

(1. School of Life Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032; 2. Institute of Military Cognition and Brain Science, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

**【ABSTRACT】 Objective:** To investigate the effects of blocking lactate synthesis on the HT22 cell injuries caused by hypoxia. **Methods:** 2-deoxy-D-glucose (2-DG) is a non-metabolized glucose analogue that can inhibit lactate synthesis by blocking glycolysis. HT22 cells were divided into 4 groups: Control group, 2-DG group, Hypoxia group and 2-DG+Hypoxia group. The cells in control group and 2-DG treatment group were cultured in a 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator, and the cells in hypoxia group and 2-DG + Hypoxia group were cultured in a hypoxia incubator. The concentrations of 2-DG were 2.5 and 5 mmol/L, the concentration of oxygen was 0.3%, and the treatment time was 24 h. Cell activity was detected by CCK-8 assay, the levels of lactate in cell culture medium were detected by spectrophotometry, cell morphology was observed by fluorescence staining, the level of reactive oxygen species (ROS) was detected by flow cytometry, and the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were determined by enzyme activity kits. The protein expression levels of p-p38, t-p38 and β-actin were detected by Western blot. **Results:** Compared with that in control group, the lactate level in culture medium and cell activity were decreased significantly ( $P<0.01$ ), the number of adherent cells was decreased, the level of ROS was increased ( $P<0.01$ ), and the enzyme activity of CAT was decreased ( $P<0.05$ ) in the 2-DG group. In the hypoxia group, the level of lactate in the culture medium was increased significantly ( $P<0.01$ ), the cell activity was decreased ( $P<0.01$ ), the number of adherent cells was decreased, the ROS levels were increased ( $P<0.01$ ), and the enzyme activities of CAT and SOD were decreased ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ). In 2-DG+Hypoxia group, the level of lactate was decreased significantly ( $P<0.05$ ), the cell viability was decreased significantly ( $P<0.01$ ), the number of cells was decreased significantly, and the ability of adhere to the wall was weakened significantly. The level of ROS was increased significantly ( $P<0.01$ ), the enzyme activities of CAT and SOD were decreased significantly ( $P<0.01$ ), the protein expression level of p-p38 was increased significantly ( $P<0.05$ ), and there was no change in t-p38. Compared with hypoxia groups, in 2-DG combined with hypoxia group, the level of lactate induced by hypoxia, the cell activity, and

the enzyme activity level of CAT were decreased significantly (all  $P < 0.01$ ), while the level of ROS was increased significantly ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Blocking lactate can reduce the cell activity level under hypoxia and aggravate the oxidative stress injury of HT22 cells. The mechanisms may be related to increasing ROS level and activating p38 signal pathway.

**[KEY WORDS]** lactate; neurons; hypoxia; oxidative stress

低氧普遍存在于多种生理病理条件下,如高原或密闭空间的自然环境,或呼吸暂停综合征、脑卒中、心肌梗塞造成机体组织损伤。大脑对能量,特别是氧的需求特别旺盛。大脑处于持续低氧状态时,会导致神经细胞的不可逆损伤,产生一系列病理改变<sup>[1]</sup>。因此,低氧是造成多种神经系统疾病的诱因。

乳酸是细胞在低氧条件下由葡萄糖经糖酵解途径代谢产生的中间代谢产物。过去的观点认为它仅仅是一种低效产能过程中的代谢副产物,而最近的研究发现赋予了乳酸新的生理学意义。乳酸可作为能量底物为神经元供能,星型胶质细胞代谢产生的乳酸可穿梭至神经元为其提供能量<sup>[2]</sup>。同时,乳酸还可以作为信号分子,激活一系列信号通路,促进突触可塑性,增强学习记忆能力<sup>[3]</sup>。并且,乳酸还能够预防糖氧剥夺诱导的海马神经元死亡<sup>[4]</sup>。但关于乳酸对神经元低氧性损伤的影响及其作用机制鲜有文献报道。为了进一步探讨低氧条件下乳酸对于神经元活性的重要意义,本文以小鼠海马神经元 HT22 低氧性损伤作为模型,通过小分子抑制剂 2-脱氧-D-葡萄糖(2-Deoxy-D-glucose, 2-DG)阻断乳酸生成,探讨其对细胞的影响及作用机制。研究结果不仅揭示乳酸在神经元低氧性损伤中的调控作用,同时也为临床上监测乳酸水平、如何减轻缺氧性脑损伤提供新的干预策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

DMEM 高糖细胞培养液购自 Gibco 公司,0.25% 胰酶购自 Sigma-Aldrich 公司,2-DG 购自 Med-ChemExpress(MCE)公司,CCK-8 试剂盒购自 Dojindo 公司,乳酸检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,活性氧(reactive oxygen species,ROS)检测试剂盒、钙黄绿素 AM(Calcein AM)购自上海碧云天生物技术有限公司,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、过氧化氢酶(catalase,CAT)检测试剂

盒购自北京普利莱基因技术有限公司,一抗  $\beta$ -actin 购自武汉爱博泰克(ABclonal)生物科技有限公司,一抗 p-p38、t-p38 和鼠/兔二抗均购自 Cell Signaling Technology 公司。

### 1.2 细胞培养

小鼠海马神经元 HT22 细胞由军事医学研究院袁增强教授馈赠。细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养液中,并放置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养。待细胞汇合度为 70%~80% 时,取对数生长期细胞进行后续实验。

### 1.3 实验分组

实验细胞随机分为 4 组:对照(Control)组、2-DG 组、低氧(Hypoxia)组、2-DG+低氧(2-DG+Hypoxia)组。对照组与 2-DG 处理组放置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养,Hypoxia 组与 2-DG+Hypoxia 组放置于低氧手套箱中培养。2-DG 浓度为 2.5、5 mmol/L,氧气浓度为 0.3%,处理时间为 24 h。

### 1.4 分光光度法检测乳酸含量

将 HT22 细胞接种于 6 孔板中,每孔 2 ml,待细胞密度达 70%~80% 时,给予各组处理。按照实验设置培养不同时间后,将细胞培养液转移至 EP 管中,3 000 r/min 离心 5 min 后收集培养液上清用于乳酸含量的测定。根据乳酸检测试剂盒说明书,取 20  $\mu$ l 培养液加入 1 ml 酶工作液和 200  $\mu$ l 显色剂,混匀后放入 37°C 水浴锅中孵育 10 min 后,立即加入 2 ml 终止液终止反应,取 100  $\mu$ l 的混合液转移至 96 孔板中使用酶标仪测定在 530 nm 波长处的各孔吸光(OD)值。

### 1.5 CCK-8 法检测细胞活性

将对数生长期的细胞接种于 96 孔板,每组设置 3 个复孔。接种细胞 24 h 分别进行 2-DG 和低氧处理。处理结束后,每孔加入 10  $\mu$ l CCK-8 试剂,继续置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 1 h,然后用酶标仪检测波长在 450 nm 处的各孔吸光值(OD 值)。设定对照组的细胞活性为 100%,计算处理组细胞活力的相对百分数,细胞活性(%) = (实验组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白对照组 OD 值)  $\times$  100%。

### 1.6 荧光染色法检测细胞形态

钙黄绿素 AM 可轻易穿透活细胞膜,并仅对活

\*【基金项目】国家自然科学基金面上项目(82072104)

【收稿日期】2022-02-14【修回日期】2022-08-04

△【通讯作者】Tel: 13681099909; E-mail: linglingzhuamms@126.com, zhaoming1981@hotmail.com

细胞进行标记的绿色荧光探针。HT22 细胞接种于 6 孔板中,待细胞经相应处理 24 h 后,弃培养基, PBS 洗涤一次,然后加入含有钙黄绿素 AM(工作浓度为 2  $\mu\text{mol/L}$ )的完全培养液于细胞培养箱中染色 10 min,然后在荧光显微镜下观察并拍照。

### 1.7 流式细胞术检测细胞 ROS 水平

HT22 细胞处理后,弃培养液, PBS 洗涤 3 次,加入无血清培养液配制的 DCFH-DA 溶液,37 $^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱内孵育 20 min 后,弃培养液,再次用 PBS 洗涤 3 次,加入胰酶消化细胞,制成细胞悬液,流式细胞仪(488 nm 激发波长,525 nm 发射波长)检测细胞的 ROS 水平。

### 1.8 分光光度法检测细胞 SOD, CAT 水平

将 HT22 细胞培养 24 h 后,弃去培养液,用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次后,加入 PBS,使用细胞刮刮下细胞,制成细胞悬液收集细胞上清液。4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 r/min 离心 5 min,弃去 PBS,重复 1 次。将收集的细胞按照酶活性试剂盒说明书操作,检测各组线粒体内 SOD 和 CAT 活性水平,单位为 U/mg prot。

### 1.9 蛋白印迹检测蛋白表达水平

胰酶消化法收集各组 HT22 细胞于 EP 管中得到细胞沉淀,然后每管加入 100  $\mu\text{l}$  的 Laemmli Sample Buffer 充分裂解细胞,煮沸离心后的上清即为全细胞蛋白裂解液。BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳后转印至 PVDF 膜,在 5% 脱脂奶粉中室温封闭 1 h。分别加入稀释后的一抗抗体 p-p38(1 : 2 000)、t-p38(1 : 2 000)、 $\beta$ -actin(1 : 20 000),4 $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。TBST 洗涤 3 次,加入脱脂奶粉稀释的鼠/兔二抗(1 : 5 000)室温孵育 1 h, TBST 再次洗涤 3 次后,化学发光试剂 ECL 在凝胶成像系统中曝光,计算蛋白条带的灰度值,其中以  $\beta$ -actin 作为内参蛋白。以目的蛋白条带灰度值和内参蛋白条带灰度值的比值作为蛋白相对表达量。

### 1.10 统计学处理

实验数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,应用 Graphpad prism 8.0 软件对数据进行分析处理,多组间分析采用单因素方差分析(one-way ANOVA),进一步两两比较采用  $q$  检验。

## 2 结果

### 2.1 2-DG 及低氧处理对 HT22 细胞活性的影响

培养液中乳酸含量检测结果显示,与对照组相

比,不同浓度(2.5、5 mmol/L)的 2-DG 处理 HT22 细胞 24 h 后,2-DG 组乳酸含量显著降低( $P < 0.01$ ,表 1),Hypoxia 组能够显著升高乳酸浓度( $P < 0.01$ ),2-DG+Hypoxia 组降低对照组乳酸含量( $P < 0.05$ )。与 Hypoxia 组比较,2-DG+Hypoxia 组的诱导效应可被 2-DG 所抑制( $P < 0.01$ )。

CCK-8 检测结果显示,与对照组比较,2.5、5 mmol/L 的 2-DG 处理 HT22 细胞 24 h 后,2-DG 组细胞活性均显著降低( $P < 0.01$ ,表 1),Hypoxia 组能够降低细胞活性( $P < 0.01$ ),2-DG 和低氧联合处理后,细胞活性下降更为显著( $P < 0.01$ )。与 Hypoxia 组比较,2-DG+Hypoxia 组能够降低低氧抑制的细胞活性( $P < 0.01$ )。当 5 mmol/L 2-DG 处理 HT22 细胞时,HT22 细胞的低氧损伤效应最显著,因此后续实验以 5 mmol/L 的 2-DG 作为实验处理剂量。

**Tab. 1** Effects of 2-DG and hypoxia on the extracellular lactate concentrations and cell viability in HT22 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

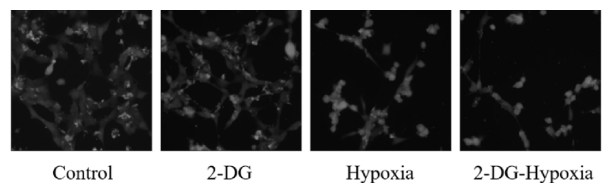
Group	Lactate level (mmol/L)	Cell viability (%)
Control	7.16 $\pm$ 0.26	100.00 $\pm$ 2.90
2-DG(2.5mmol/L)	4.52 $\pm$ 0.67**	62.00 $\pm$ 1.58**
2-DG(5 mmol/L)	4.01 $\pm$ 0.24**	51.41 $\pm$ 2.49**
Hypoxia	10.53 $\pm$ 0.08**	74.04 $\pm$ 2.16**
2-DG+Hypoxia (2.5 mmol/L)	8.10 $\pm$ 0.22***	29.38 $\pm$ 0.688***
2-DG+Hypoxia (5 mmol/L)	6.55 $\pm$ 0.28*** $\Delta$	24.57 $\pm$ 0.71*** $\Delta$

Hypoxia: 0.3% O<sub>2</sub>; 2-DG: 2.5, 5 mmol/L; cell cultured for 24 h

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group; \*\*\* $P < 0.01$  vs hypoxia group;  $\Delta$  $P < 0.01$  vs 2-DG +Hypoxia (2.5 mmol/L)

### 2.2 2-DG 及低氧处理对 HT22 细胞形态的影响

荧光染色检测结果显示,对照组细胞生长状态良好,细胞能够舒展的贴附于培养皿上。相对于对照组,2-DG 组或 Hypoxia 组的贴壁细胞数量减少,2-DG 和低氧联合处理后,细胞数量减少更为明显,且细胞凝缩,贴壁能力明显减弱(图 1)。

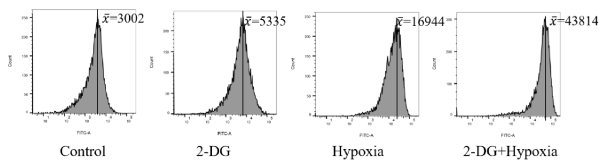


**Fig. 1** Effects of 2-DG combined with hypoxia on cell morphology of HT22 treated for 24 h by fluorochrome stain ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Hypoxia: 0.3% O<sub>2</sub>; 2-DG: 5 mmol/L; cell cultured for 24 h

### 2.3 2-DG 及低氧处理对 HT22 细胞 ROS 水平的影响

流式细胞术检测结果显示,与对照组相比,单独的 2-DG 组和 Hypoxia 组能够升高细胞内 ROS 水平 ( $P<0.01$ , 图 2), 其平均荧光强度从 ( $2850\pm260$ ) 分别上升为 ( $4891\pm510$ ) 和 ( $15931\pm10208$ ), 但 2-DG 和 Hypoxia 联合处理组的细胞内 ROS 水平升高更为显著 ( $P<0.01$ ), 平均荧光强度上升为 ( $39019\pm4421$ ), 同时与 Hypoxia 组比较, 2-DG+Hypoxia 组 ROS 水平明显增加 ( $P<0.01$ )。提示 2-DG 增加低氧条件下 HT22 内 ROS 水平。



**Fig. 2** Effects of 2-DG combined with hypoxia on ROS level of HT22 cells by flow cytometry ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Hypoxia: 0.3% O<sub>2</sub>; 2-DG: 5 mmol/L; cell cultured for 24 h

### 2.4 2-DG 及低氧处理对细胞内 CAT、SOD 活性水平的影响

对细胞内抗氧化酶活性检测结果显示,与对照组相比,2-DG 组和 Hypoxia 组单独处理均能够下调 CAT 和 SOD 的酶活性 ( $P<0.01$  或  $P<0.05$ , 表 2), 但 2-DG 和低氧联合处理组内的这两种抗氧化酶活力下降更为明显 ( $P<0.01$ ); 与 Hypoxia 组比较, 2-DG+Hypoxia 组 CAT 酶活性下降 ( $P<0.01$ )。以上结果表明 2-DG 加重低氧条件下 HT22 内抗氧化酶酶活性的下降。

**Tab. 2** Effects of 2-DG combined with hypoxia on CAT and SOD activity levels of HT22 cells ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

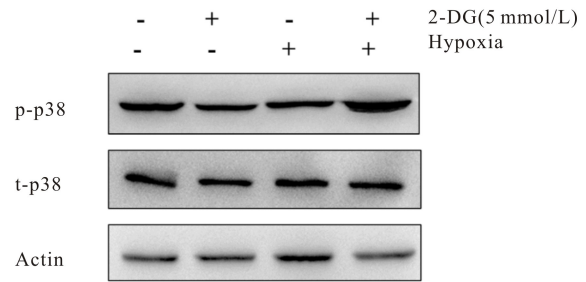
Group	CAT(U/mg prot)	SOD(U/mg prot)
Control	8.35±1.90	17.57±1.40
2-DG(5 mmol/L)	4.50±2.18*	16.32±0.56
Hypoxia	3.29±0.71**	13.11±1.00*
2-DG+Hypoxia	0.91±0.05***	12.01±1.228**

Hypoxia: 0.3%; 2-DG: 5 mmol/L; cell cultured for 24 h

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs control group; \*\*\* $P<0.01$  vs hypoxia group

### 2.5 2-DG 及低氧处理对细胞内 p38 信号通路的影响

蛋白印迹结果显示,与对照组相比,2-DG 组与 Hypoxia 组 p-p38 蛋白表达不明显,但 2-DG+Hypoxia 组 p-p38 蛋白表达明显增加 ( $P<0.05$ , 图 3, 表 3)。结果表明 HT22 细胞中 2-DG 联合低氧处理后, p38 信号通路被激活,介导下游的氧化性应激反应。



**Fig. 3** Effects of 2-DG combined with hypoxia on the expression levels of p-P38 in HT22 cells by the Western blot  
Hypoxia: 0.3% O<sub>2</sub>; 2-DG: 5 mmol/L; cell cultured for 24 h

**Tab. 3** The band densities of p-p38 and t-p38 in Fig. 3 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Group	p-p38	t-p38
Control	0.90±0.07	0.92±0.04
2-DG	1.18±0.15	0.94±0.10
Hypoxia	1.32±0.16	1.02±0.08
2-DG+Hypoxia	1.61±0.08*	0.91±0.07

\* $P<0.05$  vs control group

## 3 讨论

小鼠海马神经元 HT22 细胞具有典型的神经元形态及特征,在神经元的损伤和保护研究中应用广泛<sup>[5, 6]</sup>。在本研究中,采用 HT22 细胞作为实验对象,旨在探讨低氧条件下乳酸在维持神经元活性中的重要意义。本研究结果表明,低氧条件下阻断乳酸合成可以显著降低 HT22 细胞活性,导致活性氧显著升高,并激活 p38 氧化应激信号通路,从而诱发细胞发生氧化性损伤。

有研究发现,正常情况下大鼠海马细胞外乳酸为 1.4 mmol/L,缺氧时细胞外乳酸能够增加到 3.5 mmol/L<sup>[7]</sup>;另外,神经元中乳酸水平的升高是通过星形胶质细胞-神经元间乳酸穿梭 (astrocyte-neuron lactate shuttle, ANLS) 实现,星形胶质细胞通过摄取葡萄糖产生乳酸为神经元活动提供燃料<sup>[8]</sup>。研究还发现,脑对葡萄糖的摄取随运动强度的增加而降低。在高强度运动中,大脑利用除葡萄糖以外的底物,例如乳酸,来补偿增加的能量需求,以维持神经元活动<sup>[9, 10]</sup>。因此,乳酸在维持细胞活性中发挥着重要作用。

在低氧情况下,细胞内能量代谢发生变化,引起线粒体形态及功能受损,造成 ROS 增多以及能量缺乏<sup>[11, 12]</sup>。在本研究中,单独低氧或单独阻断乳酸生成处理可使 HT22 细胞 ROS 生成增加,而与单独低氧处理组相比,2-DG 联合低氧处理时 ROS 增加更为显著。这表明在低氧条件下,阻断乳酸生成导致

线粒体呼吸链功能异常产生过量 ROS。SOD、CAT 是细胞内重要的抗氧化剂,能清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、过氧化脂质和超氧阴离子等自由基,防止 ROS 水平过高产生细胞损伤<sup>[13, 14]</sup>。进一步的酶活性结果显示,2-DG 联合低氧处理细胞时 SOD、CAT 酶活性较其余各组显著降低。因此阻断乳酸生成可降低细胞内抗氧化能力,导致 ROS 显著升高,从而诱发细胞氧化性损伤。

作为丝裂原活化蛋白激酶 MAPK 家族的重要成员。p38 信号通路在细胞应对外界应激性刺激中发挥着重要作用。氧化应激时产生的 ROS 可以激活 p38 途径<sup>[15, 16]</sup>。接下来,本研究采用蛋白印迹方法对 p38 信号通路的活性进行了检测。结果显示,2-DG 联合低氧处理导致 p-p38 水平显著升高,但 t-p38 基本保持不变,这说明显著升高的 ROS 激活 p38 信号通路。以往研究研究显示 p38 不仅与胞内氧化应激状态密切相关,还作为 mTOR 信号通路下游的关键靶点调控自噬。ROS 可通过多种途径诱导 p38MAPK 持续活化,并参与调控细胞内的自噬过程,ROS 的清除能力下降,二者互相促进,进而造成细胞损伤和活性下降。综上所述,低氧条件下阻断乳酸合成使 HT22 细胞内抗氧化能力降低,细胞内活性氧水平显著升高,并激活 p38 信号通路,从而诱发细胞氧化性损伤。

### 【参考文献】

- [1] Zhu LL, Wu LY, Yew DT, *et al.* Effects of hypoxia on the proliferation and differentiation of NSCs [J]. *Mol Neurobiol*, 2005, 31(1-3): 211-242.
- [2] Hertz L, Dienel GA. Lactate transport and transporters: general principles and functional roles in brain cells[J]. *J Neurosci Res*, 2005, 79(1-2): 11-18.
- [3] Suzuki A, Stern SA, Bozdagi O, *et al.* Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 810-823.
- [4] Roumes H, Dumont U, Sanchez S, *et al.* Neuroprotective role of lactate in rat neonatal hypoxia-ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(2): 342-358.
- [5] Sanderson TH, Raghunayakula S, Kumar R. Release of mitochondrial Opa1 following oxidative stress in HT22 cells[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2015, 64: 116-122.
- [6] Park SY, Jung WJ, Kang JS, *et al.* Neuroprotective effects of alpha-iso-cubebene against glutamate-induced damage in the HT22 hippocampal neuronal cell line[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(2): 525-532.
- [7] Harada MOC, Sawa T. Cerebral extracellular glucose and lactate concentrations during and after moderate hypoxia in glucose-and saline-infused rats [J]. *Anesthesiology*, 1992, 77(4): 728-734.
- [8] Pellerin L, Magistretti PJ. Sweet sixteen for ANLS [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(7): 1152-1166.
- [9] Kempainen J, Aalto S, Fujimoto T, *et al.* High intensity exercise decreases global brain glucose uptake in humans[J]. *J Physiol*, 2005, 568(Pt 1): 323-332.
- [10] 许冬明, 李显国, 超 刘. 不同时间的慢跑运动对大学生血乳酸、肌酐及相关指标的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(5): 400-402.
- [11] Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, *et al.* Oxidative stress in severe acute illness [J]. *Redox Biol*, 2015, 4: 340-345.
- [12] Poupel F, Aghaei M, Movahedian A, *et al.* Dihydroartemisinin induces apoptosis in human bladder cancer cell lines through reactive oxygen species, mitochondrial membrane potential, and cytochrome C pathway[J]. *Int J Prev Med*, 2017, 8: 78.
- [13] Robinett NG, Peterson RL, Culotta VC. Eukaryotic copper-only superoxide dismutases (SODs): A new class of SOD enzymes and SOD-like protein domains[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(13): 4636-4643.
- [14] 姬卫秀, 张 纓. 不同氧浓度下 C2C12 细胞的 Nrf2 抗氧化系统对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激的反应[J]. *中国应用生理学杂志*, 2019, 35(4): 317-322.
- [15] Rusetskaya NY, Fedotov IV, Koftina VA, *et al.* Selenium compounds in redox regulation of inflammation and apoptosis[J]. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2019, 13(4): 277-292.
- [16] Reinhardt HC, Aslanian AS, Lees JA, *et al.* p53-deficient cells rely on ATM- and ATR-mediated checkpoint signaling through the p38MAPK/MK2 pathway for survival after DNA damage[J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(2): 175-189.