

【综述】

通信作者:刘传鑫(1990-),男,山东鄄城人,博士,主管药师,硕士研究生导师,研究方向:分析毒理学与代谢组学研究;E-mail:15222003775@163.com。姜宏卫(1974-),男,河南范县人,博士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向:内分泌系统疾病;E-mail:jianghw@haust.edu.cn。

NADPH)再生基因、脂质过氧化基因和铁调节基因等编码与铁死亡有关的抗氧化剂基因^[5-6]。有研究证明,通过激活 NRF2 下调氧化应激水平来抑制铁死亡可能是 DCM 潜在治疗途径^[7-8]。ZANG 等^[9]研究发现,糖尿病可能导致 NRF2 关闭其所介导的防御,并启动心肌细胞铁死亡病理过程,进而恶化 DCM。基于大量研究结果发现,NRF2 介导的铁死亡在 DCM 病理过程中起到关键作用。本文就铁死亡机制、铁死亡与 DCM 之间的关系进行概述,并重点就 NRF2 分子机制、生物学功能以及靶向 NRF2 治疗 DCM 的效果进行综述。

1 铁死亡及其机制

细胞死亡是机体维持正常生命活动的重要基础,根据其形态、生物化学和调节特征可分为细胞凋亡、坏死性凋亡、自噬、细胞焦亡、坏死和铁死亡,从某种程度上讲细胞死亡是机体预防疾病的关键因素。DIXON 等^[1]于 2012 年首次将这种铁依赖性非凋亡形式的细胞死亡定义为铁死亡。形态学上,铁死亡主要表现为线粒体收缩、线粒体膜密度增加以及线粒体嵴减少或消失。另外,质膜完整性丧失、细胞质肿胀和中度染色质浓缩也是其显著的形态特征^[10-11],而其生物化学特征为胱氨酸的缺乏、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的消耗和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 的失活^[12]。这一过程主要与铁代谢途径、脂质代谢途径和 Xc-GSH-GPX4 途径的调节有关。

1.1 铁代谢途径

铁是生物体必不可少的微量元素之一。脂质过氧化通过铁依赖酶促(非血红蛋白的含铁脂氧合酶家族)和非酶促过程(铁催化的脂质自由基自氧化链式反应,铁驱动的过氧化氢产物的氧化裂解)介导^[13]。胞外 Fe^{3+} 的摄取需要通过转铁蛋白 (transferrin, TF) 和转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TFR) 的介导来实现。携带 Fe^{3+} 的 TF 与靶细胞上 TFR 结合,利用前列腺六跨膜上皮抗原 3 将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 并进入胞内。TF 与 TFR 表达影响细胞对铁死亡的敏感性,TF 消耗和 TFR 抑制可明显抑制铁死亡水平^[14]。细胞内已还原的 Fe^{2+} 可用于组成铁依赖性酶,或者储存在不稳定铁池和铁蛋白中^[15],冗余的 Fe^{2+} 在膜铁转运蛋白 1 作用下被转运到细胞外。铁蛋白耗竭或在其他情况下释放到铁池中的铁增加是铁死亡的必要条件。

通常情况下,细胞内铁稳态平衡反映在铁的吸收、输出、利用和储存之间的平衡。当细胞内铁超载

时, Fe^{2+} 容易与过氧化脂质发生芬顿反应,产生羟自由基,并引起剧烈氧化应激反应,产生大量活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 并诱发铁死亡^[16]。同时, Fe^{2+} 可增强各种代谢酶活性,促进脂质 ROS 产生,引起铁死亡。总之,铁是铁死亡必需元素,铁代谢失衡是铁死亡必要过程。

1.2 脂质代谢途径

ROS 主要由线粒体产生,在细胞信号转导和维持组织内稳态中起重要作用^[17]。ROS 生成和清除之间的不平衡可导致与氧化应激相关的各种病理表现,而脂质正是被 ROS 攻击的最脆弱生物分子之一^[18]。因此,脂质过氧化水平代表了氧化应激状态。脂质过氧化为氧自由基、过氧自由基和羟基自由基等自由基攻击多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 二烯丙基的过程,导致脂质过氧化自由基和过氧化氢积累^[13]。脂质代谢组学分析表明,PUFA 是在铁死亡过程中最容易氧化的脂质,且受磷脂酰胆碱转移酶 3、长链脂肪酰辅酶 A 合成酶 4 和 acyl-CoA 合成酶 3 种合酶的调节^[19]。DIXON 等^[20]研究发现,参与 PUFA 合成的长链脂肪酰辅酶 A 合成酶 4 和磷脂酰胆碱转移酶 3 通过将大量突变插入单倍体细胞而在铁死亡过程中扮演重要角色。脂氧合酶也被证实可介导铁死亡过程^[19]。另有一些研究证明,敲除或者抑制上述 3 种合酶可以抑制铁死亡的发生与发展^[21-22]。

SHAH 等^[23]研究发现,脂质自氧化可能是铁死亡的主要原因。有研究发现,位于内质网的细胞色素 P450 氧化还原酶 (cytochrome P450 oxidoreductase, POR) 在细胞色素 b5 还原酶 (cytochrome b5 reductase, CYB5R1) 的参与下,可促进磷脂过氧化并导致细胞膜损伤^[24-25]。尽管存在抗氧化系统,但在 CYB5R1 的作用下,磷脂氢过氧化物 (phospholipid hydroperoxide, PLOOH) 仍可能达到作用阈值,这一证据反映了酶促反应在铁死亡中的重要性^[23]。此外,抗氧化剂 Ferrostatin-1、Liproxstatin-1 和维生素 E 已被证明可通过保护细胞免受脂质过氧化物的影响来抑制铁死亡^[13,26]。尽管上述研究证实了脂质过氧化对铁死亡有促进作用,但目前对于脂质过氧化诱导铁死亡的机制和过氧化酶在铁死亡中发挥的其他作用仍有待探索。

1.3 Xc-GSH-GPX4 途径

目前普遍认为,铁死亡本质是各种氧化应激刺激所诱导的脂质氢过氧化物铁依赖性积累,而 Xc-GSH-GPX4 途径在其中发挥着重要作用。Xc 系统是由 2 个独立蛋白质组成的胱氨酸/谷氨酸逆向

转运系统。这 2 个蛋白质为溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 members 11, SLC7A11) 和溶质载体家族 3 成员 2 (solute carrier family 3 member 2, SLC3A2)。Xc 系统以 1:1 比例在细胞内外交换谷氨酸和胱氨酸^[27]。转运到细胞中的胱氨酸被还原为半胱氨酸用于合成 GSH。GSH 是 GPX4 必需的辅助因子。GPX4 已被确定为铁死亡决定性上游调节物质,广泛存在于细胞质、细胞核、线粒体和其他细胞器中^[28-29]。GPX4 催化脂质氢过氧化物与还原型 GSH 的巯基结合,将有害物质转化为无毒的脂质醇,从而阻断 ROS 链反应,避免铁死亡的发生^[28,30]。Xc 系统摄取胱氨酸这一步骤为半胱氨酸合成限速步骤,阻断或抑制该步骤可导致细胞内半胱氨酸减少,抑制 GPX4 脂质修复功能,并降低细胞抗氧化能力,从而促进铁死亡^[31]。

2 铁死亡与 DCM

2.1 DCM 概述

DCM 为糖尿病患者有无冠状动脉粥样硬化和高血压情况下发生心室功能障碍的临床症状^[32]。DCM 初始阶段通常无任何症状,随着病情发展会出现呼吸困难、头晕、心律不齐、心绞痛等症状,并且 DCM 与 1 型糖尿病和 2 型糖尿病均密切相关^[33]。DCM 早期通常表现为心肌纤维化、左心室肥大和舒张功能障碍。在晚期,DCM 表现为收缩功能障碍、射血分数降低,最终出现临床心力衰竭^[34]。DCM 发生发展与一系列复杂调节因素和信号通路有关,包括高血糖、胰岛素抵抗、线粒体功能障碍、内皮功能障碍、微血管功能障碍、ROS 积累、内质网应激、心脏自主神经病变、细胞内钙处理受损等^[35-36],但氧化应激被广泛认为是导致 DCM 的主要机制,其为 ROS 产生和抗氧化能力之间失衡的结果。这些病理改变可能导致细胞死亡,进而导致心肌质量下降、心脏功能受损、间质纤维化和心力衰竭^[37]。特异性靶向氧化应激源或内源性抗氧化防御系统可能为 DCM 有效治疗开辟出新思路。

2.2 DCM 中的铁死亡

DCM 是一种独立、特定的糖尿病心脏并发症。有证据表明,DCM 发生发展过程中存在铁死亡典型特征^[38],这表明 DCM 与铁死亡之间存在联系。一项链脉佐菌素诱导的 1 型糖尿病大鼠心脏缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤和培养的 H9C2 心肌细胞缺氧/复氧 (hypoxia/re-oxygenation, H/R) 损伤实验结果显示,心肌细胞 I/R、H/R 损伤均会诱导铁死亡,而在抑制铁死亡后 2 种损伤得到

明显改善^[38]。另外,内质网应激加重铁沉积是铁死亡的主要诱因之一,也是其典型特征。细胞内铁沉积可不同程度导致包括线粒体结构异常、线粒体 ROS 爆发、线粒体过氧化脂质积累和线粒体膜电位变化在内的线粒体损伤,这是细胞铁死亡的典型特征^[39],ZOU 等^[40]在 DCM 大鼠心肌细胞中观察到了铁沉积。WANG 等^[41]研究发现,相较于非糖尿病小鼠,糖尿病小鼠心脏线粒体表现异常,其线粒体嵴不明显且线粒体膜电位明显下降,这是典型铁死亡导致线粒体异常的特征。此外,糖尿病小鼠心脏线粒体中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和 GPX1 表达下调,且 ROS 水平明显升高。在高血糖的情况下,氧化应激和抗氧化系统损伤已被证明是 DCM 的发病基础^[42]。从上述证据可以推测,铁死亡可能通过铁超载致使线粒体损伤,进而破坏抗氧化系统并参与 DCM 发病机制。

总之,铁死亡与 DCM 发病机制密不可分,但目前对于 DCM 中铁死亡机制仍知之甚少,未来仍需要进行相关研究来证实其机制。

3 靶向 NRF2 治疗 DCM

最近“铁死亡标志”被提出,包括 GPX4 功能丧失、游离铁利用率增加和 PUFA 氧化^[43]。许多负责阻止这些标志物启动铁死亡反应的氧化还原与铁代谢蛋白,如轻链铁蛋白与重链铁蛋白、谷氨酸-半胱氨酸连接酶调节和催化亚基,包括 GPX4,都是 NRF2 的靶基因^[44]。通过靶向药物治疗 DCM 可能是未来新的研究方向。基于现有的研究成果,现对 NRF2 的分子机制及其对 DCM 的治疗机制进行概述。

3.1 NRF2 对抗 DCM 心脏损伤的分子机制

NRF2 是氧化应激反应主要调控因子之一,由 NFE2L2 基因编码,属于碱性亮氨酸拉链 (basic leucine zipper, bZip) 转录因子的 Cap “n” 亚家族,其功能分布广泛,控制着超过 1 000 个基因的表达,所控制的基因可分为以下几类:抗氧化基因、II 期解毒酶、转录因子、蛋白酶体、清道夫受体、自噬性降解和新陈代谢基因^[45]。作为一种重要的抗氧化应激转录因子,NRF2 在提高细胞对氧化应激耐受性方面扮演重要角色。在 DCM 中,NRF2 表达受 LAZ3 (BCL-6) 基因和微 RNA-21 的调控。LAZ3 编码一个包含 6 个锌指生物基因序列的序列特异性转录抑制因子,其与多个转录因子具有氨基末端同源性^[46]。微 RNA-21 是一种在所有类型糖尿病和心脏疾病中都受到调控的重要遗传物质^[47-50]。GAO 等^[46]研究评估了 LAZ3 在 DCM 中的作用,结果发现,LAZ3 可

通过降低微 RNA-21 水平来缓解 DCM 患者的心脏损伤,这一保护作用可被 NRF2 siRNA 消除。由此推测,LAZ3 对 DCM 的调节作用可能是由微 RNA-21 和 NRF2 介导。作为调控抗氧化作用关键因子,NRF2 修饰可显著影响心脏和血管的表型。NRF2 基因缺失可导致小鼠心脏肥大、左心室舒张功能障碍以及对 β -肾上腺素的刺激反应减弱,NRF2 缺失还可导致小鼠全身血压降低、主动脉和心脏中内皮型一氧化氮合酶上调,此外,NRF2 缺失导致的小鼠左心室功能障碍可能与心肌中肌浆网 Ca^{+} -ATP 酶下调有关^[51]。

NRF2/Keap1/ARE 通路是心肌抵抗高糖和糖尿病条件下氧化损伤的主要机制^[52]。该信号通路调节许多与抗氧化应激和细胞死亡相关基因;已有研究证明,它们可以减轻氧化应激诱导的心肌损伤并减缓 DCM 进展^[53]。正常稳态下,位于细胞质中的 NRF2 与其抑制剂 Keap1 结合,并被 Keap1/Cul3 依赖性泛素连接酶降解,从而抑制 NRF2 信号通路;在受到亲电化学物质和氧化应激等外部攻击后,NRF2 从 Keap1 释放并转运至细胞核中,与基因启动子上 ARE 结合,进而导致包括谷氨酸-半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽-S-转移酶、血红素加氧酶 1、过氧化氢酶、NADPH、SOD 和醌氧化还原酶等抗氧化酶转录激活,以此拮抗氧化应激引起的组织炎症与损伤^[54]。

3.2 靶向 NRF2 通路改善 DCM

大量化学物质被发现可以缓解 DCM 相关症状。热休克转录因子 1 (heat shock transcription factor 1, HSF1) 是一种应激诱导的转录因子,因调节各种热休克蛋白的转录激活而在热休克反应中为人熟知。有研究报道,HSF1 可能通过调节铁代谢相关基因和 GPX4 的表达,来改善棕榈酸诱导的心肌细胞铁死亡^[55]。细胞中辅酶 Q10 参与铁死亡调节,主要通过抑制细胞膜的脂质过氧化,来减少铁死亡^[56]。辅酶 Q10 可缓解糖尿病引起的心脏舒张功能障碍、心脏纤维化、心肌细胞肥大并修复糖尿病引起的心脏损伤^[57]。维生素 E 作为铁死亡抑制剂,可通过抑制脂质过氧化来改善抗氧化防御系统,缓解糖尿病引起的心力衰竭^[58]。

NRF2 功能广泛,从抗氧化防御到蛋白质质量控制和代谢,被认为是抗氧化防御主要调节因子;其控制许多与铁死亡相关基因的表达,通常被认为对铁死亡有抑制作用,已成为治疗 DCM 等与氧化应激相关疾病的潜在药物靶点^[59]。萝卜硫素能通过 AMPK/AKT/GSK3 β 信号通路激活 NRF2,以上调其

下游金属硫蛋白,从而逆转氧化损伤和纤维化^[60]。WANG 等^[61]研究发现,外源精胺可通过抑制 NRF2-ROS-p53-MuRF1 轴表达来上调钙敏感受体水平,最终恢复钙稳态并缓解氧化应激,从而发挥对 1 型糖尿病大鼠心脏的保护作用。依帕列净、成纤维细胞因子-21、别嘌呤醇、木犀草素、人沉默调节蛋白 6、三七皂苷 R1、脂联素等^[62]已被证明具有类似作用。尽管如此,这些化合物是否通过阻断糖尿病心肌细胞中的铁死亡来发挥保护作用还有待进一步研究。

3.3 NRF2 激活剂治疗 DCM 的潜在挑战

NRF2 已被证明可以参与许多对细胞存活十分重要的信号通路之间的转导^[63]。包括萝卜硫素在内的许多 NRF2 激活剂可以与半胱氨酸反应,调节多种细胞内信号通路转导^[64]。新型口服 NRF2 激活剂 Bardoxolone 因对患有 2 型糖尿病的终末期肾病患者产生严重不良反应而退出 III 期临床试验^[65],与 Bardoxolone 相关的药物不良反应正是由于 NRF2 激活剂脱靶所致。糖尿病和癌症是在全球范围内的常见疾病,流行病学证据表明,糖尿病患者患多种癌症的潜在风险明显高于健康人^[66]。目前尚无明确数据证明使用 NRF2 激活剂会增加癌症发生率,但是癌症患者长期使用 NRF2 激活剂可能会导致肿瘤转移并恶化预后^[67]。

4 结论

铁死亡是一种涉及多种疾病的新型调节性细胞死亡,因其在细胞生长中的重要性和在疾病防治中的作用,在世界范围内引起研究热潮。铁死亡在糖尿病及其并发症,尤其是 DCM 中发挥重要作用,靶向铁死亡的药物可能为 DCM 患者提供新的治疗策略。NRF2 在其中扮演不可或缺的角色,NRF2 药理活性激活有助于对抗 DCM 的许多病理过程,虽然仍存在一些挑战,但通过靶向药物调控 NRF2 信号转导未来可能为 DCM 患者带来福音。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, *et al.* Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171 (2): 273-285.
- [3] CHEN H, YANG X, LU K, *et al.* Inhibition of high glucose-induced inflammation and fibrosis by a novel curcumin derivative prevents renal and heart injury in diabetic mice [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 278: 48-58.

- [4] CHEN Q M, MALTAGLIATI A J. Nrf2 at the heart of oxidative stress and cardiac protection[J]. *Physiol Genomics*, 2018, 50(2): 77-97.
- [5] FAN Z, WIRTH A K, CHEN D, *et al.* Nrf2-Keap1 pathway promotes cell proliferation and diminishes ferroptosis[J]. *Oncogenesis*, 2017, 6(8): e371.
- [6] ABDALKADER M, LAMPINEN R, KANNINEN K M, *et al.* Targeting Nrf2 to suppress ferroptosis and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 466.
- [7] HU X, RAJESH M, ZHANG J, *et al.* Protection by dimethyl fumarate against diabetic cardiomyopathy in type 1 diabetic mice likely via activation of nuclear factor erythroid-2 related factor 2[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 287: 131-141.
- [8] WANG G, SONG X, ZHAO L, *et al.* Resveratrol prevents diabetic cardiomyopathy by increasing Nrf2 expression and transcriptional activity[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 2150218.
- [9] ZANG H, WU W, QI L, *et al.* Autophagy inhibition enables Nrf2 to exaggerate the progression of diabetic cardiomyopathy in mice[J]. *Diabetes*, 2020, 69(12): 2720-2734.
- [10] LI Z, CHEN L, CHEN C, *et al.* Targeting ferroptosis in breast cancer[J]. *Biomark Res*, 2020, 8(1): 58.
- [11] TANG D, CHEN X, KANG R, *et al.* Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125.
- [12] JIANG M, HU R, YU R, *et al.* A narrative review of mechanisms of ferroptosis in cancer: new challenges and opportunities[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(20): 1599.
- [13] KAJARABILE N, LATUNDE-DADA G O. Programmed cell-death by ferroptosis: antioxidants as mitigators[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4968.
- [14] GAO M, MONIAN P, QUADRI N, *et al.* Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis[J]. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 298-308.
- [15] BOGDAN A R, MIYAZAWA M, HASHIMOTO K, *et al.* Regulators of iron homeostasis: new players in metabolism, cell death, and disease[J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(3): 274-286.
- [16] SHEN Z, LIU T, LI Y, *et al.* Fenton-reaction-acceleratable magnetic nanoparticles for ferroptosis therapy of orthotopic brain tumors[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(11): 11355-11365.
- [17] LATUNDE-DADA G O. Ferroptosis: role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(8): 1893-1900.
- [18] LIANG C, ZHANG X, YANG M, *et al.* Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy[J]. *Adv Mater*, 2019, 31(51): e1904197.
- [19] KAGAN V E, MAO G, QU F, *et al.* Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 81-90.
- [20] DIXON S J, WINTER G E, MUSAVI L S, *et al.* Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death[J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(7): 1604-1609.
- [21] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, *et al.* ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91-98.
- [22] SHINTOKU R, TAKIGAWA Y, YAMADA K, *et al.* Lipoxygenase-mediated generation of lipid peroxides enhances ferroptosis induced by erastin and RSL3[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(11): 2187-2194.
- [23] SHAH R, SHCHEPINOV M S, PRATT D A. Resolving the role of lipoxygenases in the initiation and execution of ferroptosis[J]. *ACS Cent Sci*, 2018, 4(3): 387-396.
- [24] ZOU Y, LI H, GRAHAM E T, *et al.* Cytochrome P450 oxidoreductase contributes to phospholipid peroxidation in ferroptosis[J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(3): 302-309.
- [25] YAN B, AI Y, SUN Q, *et al.* Membrane damage during ferroptosis is caused by oxidation of phospholipids catalyzed by the oxidoreductases POR and CYB5R1[J]. *Mol Cell*, 2021, 81(2): 355-369. e10.
- [26] LI J, CAO F, YIN H, *et al.* Ferroptosis: past, present and future[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88.
- [27] BRIDGES R, LUTGEN V, LOBNER D, *et al.* Thinking outside the cleft to understand synaptic activity: contribution of the cystine-glutamate antiporter (System xc-) to normal and pathological glutamatergic signaling[J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3): 780-802.
- [28] SEIBT T M, PRONETH B, CONRAD M. Role of GPX4 in ferroptosis and its pharmacological implication[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 144-152.
- [29] LI N, JIANG W, WANG W, *et al.* Ferroptosis and its emerging roles in cardiovascular diseases[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 166: 105466.
- [30] INGOLD I, BERNDT C, SCHMITT S, *et al.* Selenium utilization by GPX4 is required to prevent hydroperoxide-induced ferroptosis[J]. *Cell*, 2018, 172(3): 409-422. e21.
- [31] LIU X, ZHANG Y, ZHUANG L, *et al.* NADPH debt drives redox bankruptcy; SLC7A11/xCT-mediated cystine uptake as a double-edged sword in cellular redox regulation[J]. *Genes Dis*, 2021, 8(6): 731-745.
- [32] JIA G, HILL M A, SOWERS J R. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity[J]. *Circ Res*, 2018, 122(4): 624-638.
- [33] BOUDINA S, ABEL E D. Diabetic cardiomyopathy revisited[J]. *Circulation*, 2007, 115(25): 3213-3223.
- [34] KANNEL W B, HJORTLAND M, CASTELLI W P. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study[J]. *Am J Cardiol*, 1974, 34(1): 29-34.
- [35] TARQUINI R, PALA L, BRANCATI S, *et al.* Clinical approach to diabetic cardiomyopathy: a review of human studies[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(13): 1510-1524.
- [36] RITCHIE R H, ABEL E D. Basic mechanisms of diabetic heart disease[J]. *Circ Res*, 2020, 126(11): 1501-1525.
- [37] ANEJA A, TANG W H W, BANSILAL S, *et al.* Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options[J]. *Am J Med*, 2008, 121(9): 748-757.
- [38] LI W, LI W, LENG Y, *et al.* Ferroptosis is involved in diabetes myocardial ischemia/reperfusion injury through endoplasmic reticulum stress[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(2): 210-225.
- [39] WU H, WANG F, TA N, *et al.* The multifaceted regulation of mi-

- tochondria in ferroptosis[J]. *Life*,2021,11(3):222.
- [40] ZOU C,LIU X,XIE R,*et al.* Deferiprone attenuates inflammation and myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2017,486(4):930-936.
- [41] WANG S Y,ZHU S,WU J,*et al.* Exercise enhances cardiac function by improving mitochondrial dysfunction and maintaining energy homeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy[J]. *J Mol Med (Berl)*,2020,98(2):245-261.
- [42] SHAH M S,BROWNLEE M. Molecular and cellular mechanisms of cardiovascular disorders in diabetes[J]. *Circ Res*,2016,118(11):1808-1829.
- [43] DIXON S J,STOCKWELL B R. The hallmarks of ferroptosis[J]. *Annu Rev Cancer Biol*,2019,3:35-54.
- [44] DODSON M,CASTRO-PORTUGUEZ R,ZHANG D D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis[J]. *Redox Biol*,2019,23:101107.
- [45] ZANG H,MATHEW R O,CUI T. The dark side of Nrf2 in the heart[J]. *Front Physiol*,2020,11:722.
- [46] GAO L,LIU Y,GUO S,*et al.* LAZ3 protects cardiac remodeling in diabetic cardiomyopathy via regulating miR-21/PPAR α signaling[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*,2018,1864(10):3322-3338.
- [47] QIAO S,OLSON J M,PATERSON M,*et al.* MicroRNA-21 mediates isoflurane-induced cardioprotection against ischemia-reperfusion injury via akt/nitric oxide synthase/mitochondrial permeability transition pore pathway[J]. *Anesthesiology*,2015,123(4):786-798.
- [48] OLSON J M,YAN Y,BAI X,*et al.* Up-regulation of microRNA-21 mediates isoflurane-induced protection of cardiomyocytes[J]. *Anesthesiology*,2015,122(4):795-805.
- [49] SEKAR D,VENUGOPAL B,SEKAR P,*et al.* Role of microRNA 21 in diabetes and associated/related diseases[J]. *Gene*,2016,582(1):14-18.
- [50] GE Z D,LI Y,QIAO S,*et al.* Failure of isoflurane cardiac preconditioning in obese type 2 diabetic mice involves aberrant regulation of microRNA-21, endothelial nitric-oxide synthase, and mitochondrial complex I[J]. *Anesthesiology*,2018,128(1):117-129.
- [51] ERKENS R,KRAMER C M,LÜCKSTÄDT W,*et al.* Left ventricular diastolic dysfunction in Nrf2 knock out mice is associated with cardiac hypertrophy, decreased expression of SERCA2a, and preserved endothelial function[J]. *Free Radic Biol Med*,2015,89:906-917.
- [52] DAVID J A,RIFKIN W J,RABBANI P S,*et al.* The Nrf2/Keap1/ARE pathway and oxidative stress as a therapeutic target in type II diabetes mellitus[J]. *J Diabetes Res*,2017,2017:1-15.
- [53] DLUDLA P V,MULLER C J,JOUBERT E,*et al.* Aspalathin protects the heart against hyperglycemia-induced oxidative damage by up-regulating Nrf2 expression[J]. *Molecules*,2017,22(1):129.
- [54] ZHANG Z,ZHOU S,JIANG X,*et al.* The role of the Nrf2/Keap1 pathway in obesity and metabolic syndrome[J]. *Rev Endocr Metab Disord*,2015,16(1):35-45.
- [55] WANG N,MA H,LI J,*et al.* HSF1 functions as a key defender against palmitic acid-induced ferroptosis in cardiomyocytes[J]. *J Mol Cell Cardiol*,2021,150:65-76.
- [56] BERSUKER K,HENDRICKS J M,LI Z,*et al.* The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis[J]. *Nature*,2019,575(7784):688-692.
- [57] HUYNH K,KIRIAZIS H,DU X J,*et al.* Coenzyme Q10 attenuates diastolic dysfunction, cardiomyocyte hypertrophy and cardiac fibrosis in the db/db mouse model of type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*,2012,55(5):1544-1553.
- [58] SHIRPOOR A,SALAMI S,KHADEM-ANSARI M H,*et al.* Cardioprotective effect of vitamin E:rescues of diabetes-induced cardiac malfunction,oxidative stress,and apoptosis in rat[J]. *J Diabetes Complications*,2009,23(5):310-316.
- [59] JENKINS T,GOUGE J. Nrf2 in cancer,detoxifying enzymes and cell death programs[J]. *Antioxidants*,2021,10(7):1030.
- [60] GU J,CHENG Y,WU H,*et al.* Metallothionein is downstream of Nrf2 and partially mediates sulforaphane prevention of diabetic cardiomyopathy[J]. *Diabetes*,2017,66(2):529-542.
- [61] WANG Y,CHEN J,LI S,*et al.* Exogenous spermine attenuates rat diabetic cardiomyopathy via suppressing ROS-p53 mediated downregulation of calcium-sensitive receptor[J]. *Redox Biol*,2020,32:101514.
- [62] DUAN J Y,LIN X,XU F,*et al.* Ferroptosis and its potential role in metabolic diseases;a curse or revitalization?[J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:701788.
- [63] CUADRADO A,MARTÍN-MOLDES Z,YE J,*et al.* Transcription factors NRF2 and NF- κ B are coordinated effectors of the Rho family,GTP-binding protein RAC1 during inflammation[J]. *J Biol Chem*,2014,289(22):15244-15258.
- [64] STEELE M L,FULLER S,PATEL M,*et al.* Effect of Nrf2 activators on release of glutathione,cysteinylglycine and homocysteine by human U373 astroglial cells[J]. *Redox Biol*,2013,1(1):441-445.
- [65] CHIN M P,BAKRIS G L,BLOCK G A,*et al.* Bardoxolone methyl improves kidney function in patients with chronic kidney disease stage 4 and type 2 diabetes:post-hoc analyses from bardoxolone methyl evaluation in patients with chronic kidney disease and type 2 diabetes study[J]. *Am J Nephrol*,2018,47(1):40-47.
- [66] OHKUMA T,PETERS S A E,WOODWARD M. Sex differences in the association between diabetes and cancer;a systematic review and meta-analysis of 121 cohorts including 20 million individuals and one million events[J]. *Diabetologia*,2018,61(10):2140-2154.
- [67] WANG H,LIU X,LONG M,*et al.* NRF2 activation by antioxidant antidiabetic agents accelerates tumor metastasis[J]. *Sci Transl Med*,2016,8(334):334ra51.