

DETA-NONOate对大鼠肝缺血再灌注损伤 mGST作用的研究

胡小芳^{1,2*}, 章志红^{2,3}, 谭广强⁴, 丁慎谦⁴, 姜晨辉^{2,3#}

¹南昌大学抚州医学院护理与康复学院, 江西 抚州

²江西省抚州市慢性病研究技术创新中心, 江西 抚州

³南昌大学抚州医学院基础医学院, 江西 抚州

⁴南昌大学抚州医学院慢性病研究重点实验室, 江西 抚州

收稿日期: 2026年6月2日; 录用日期: 2026年7月2日; 发布日期: 2026年7月8日

摘要

目的: 探讨一氧化氮供体DETA-NONOate对大鼠肝缺血再灌注(I/R)损伤的保护作用及对微粒体谷胱甘肽S-转移酶(mGST)系统的影响。**方法:** 36只健康雄性SD大鼠随机分为假手术早/晚期组、I/R早/晚期组、DETA干预早/晚期组, 建立70%肝缺血1 h再灌注模型, DETA干预组再灌注前5 min尾静脉注射0.2 mg/kg DETA-NONOate。各组分别于再灌注4 h、12 h采集样本, 检测血清ALT、AST活性、肝组织病理学损伤、GSH、GSSG、MDA、mGST活性及mGST-1/-2/-3基因表达水平。结果: 与同期I/R组相比, DETA干预组血清AST、ALT活性降低, 肝组织病理损伤减轻, GSH水平升高, GSSG及MDA水平降低, mGST活性降低, mGST-1/2 (晚期)及mGST-3 (早、晚期) mRNA表达水平升高(均 $P < 0.05$)。与早期(4 h)相比, DETA干预组晚期(12 h) AST水平、mGST活性、GSH水平、GSSG水平均升高, mGST-1、mGST-2、mGST-3 mRNA表达水平均上调(均 $P < 0.05$)。结论: DETA-NONOate可通过抑制氧化应激与脂质过氧化、调控mGST系统减轻大鼠肝I/R损伤。

关键词

肝脏缺血再灌注损伤, DETA-NONOate, 微粒体谷胱甘肽S-转移酶(mGST), 氧化应激

Effect of DETA-NONOate on mGST in Rat Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury

Xiaofang Hu^{1,2*}, Zhihong Zhang^{2,3}, Guangqiang Tan⁴, Shenqian Ding⁴, Chenhui Jiang^{2,3#}

¹School of Nursing and Rehabilitation, Fuzhou Medical College of Nanchang University, Fuzhou Jiangxi

²Fuzhou Chronic Disease Research and Technology Innovation Center of Jiangxi Province, Fuzhou Jiangxi

³School of Basic Medical Sciences, Fuzhou Medical College of Nanchang University, Fuzhou Jiangxi

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 胡小芳, 章志红, 谭广强, 丁慎谦, 姜晨辉. DETA-NONOate 对大鼠肝缺血再灌注损伤 mGST 作用的研究[J]. 药物资讯, 2026, 15(4): 355-365. DOI: 10.12677/pi.2026.154038

Abstract

Objective: To investigate the protective effect of the nitric oxide donor DETA-NONOate on hepatic ischemia-reperfusion (I/R) injury in rats and its effect on the microsomal glutathione S-transferase (mGST) system. **Methods:** Thirty-six healthy male SD rats were randomly divided into sham operation early/late groups, I/R early/late groups, and DETA intervention early/late groups. A 70% hepatic ischemia for 1 hour and reperfusion model was established. The DETA intervention group received an intravenous injection of 0.2 mg/kg DETA-NONOate via the tail vein 5 minutes before reperfusion. Blood and liver tissue samples were collected at 4 hours and 12 hours after reperfusion. Serum ALT and AST activities, liver histopathological damage, levels of GSH, GSSG, MDA, mGST activity, and mGST-1/-2/-3 gene expression levels were measured. **Results:** Compared with the I/R group at the same time point, the DETA intervention group showed decreased serum AST and ALT activities, reduced liver histopathological damage, increased GSH level, decreased GSSG and MDA levels, decreased mGST activity, and increased mRNA expression levels of mGST-1/2 (late stage) and mGST-3 (early and late stages) (all $P < 0.05$). Compared with the early stage (4 h), the DETA intervention group at the late stage (12 h) showed increased AST level, mGST activity, GSH level, GSSG level, and up-regulated mRNA expression levels of mGST-1, mGST-2, and mGST-3 (all $P < 0.05$). **Conclusion:** DETA-NONOate can attenuate rat hepatic I/R injury by inhibiting oxidative stress and lipid peroxidation, and regulating the mGST system.

Keywords

Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury, DETA-NONOate, Microsomal Glutathione S-Transferase (mGST), Oxidative Stress

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)是肝移植及肝切除等术后肝功能不全的重要原因,其核心机制涉及复杂的炎症反应与氧化应激级联反应[1]-[4]。一氧化氮(NO)在肝脏缺血再灌注(I/R)损伤中扮演着复杂而关键的角色,其作用呈现典型的“双刃剑”效应[5]。在生理条件下,NO作为内源性血管舒张因子,可通过sGC-cGMP-PKG通路改善肝脏微循环,并作为抗氧化剂参与氧化应激的调节[6];但在病理状态下,过量产生的NO可与超氧阴离子反应,生成强氧化性的过氧亚硝酸盐(ONOO⁻),引发硝化应激,导致脂质、蛋白质及DNA损伤,从而加剧组织破坏[7]。NO这种保护与损伤效应的微妙平衡,严格依赖于其在微观局部微环境中的浓度、精确的时空分布及其与活性氧的动态平衡[8][9]。因此,如何精确调控外源性NO的递送,以最大化其保护潜能并规避其毒性风险,成为I/R损伤干预领域的一个重要科学问题。

微粒体谷胱甘肽S-转移酶(microsomal glutathione S-transferase, mGST)是肝脏解毒与抗氧化防御系统的关键酶类[9]。研究表明,GST家族成员可通过催化谷胱甘肽(GSH)与亲电子代谢物或氧化损伤产物结

合,在清除毒性物质、维持细胞氧化还原稳态中扮演重要角色[10]。mGST 因特异性定位于肝脏微粒体(内质网相关膜结构),被认为在抵御内质网应激及脂质过氧化损伤中具有特殊功能[11][12],而这恰恰是 HIRI 进程中的关键病理环节。然而,作为 HIRI 中关键调控分子,NO 信号系统是否通过影响 mGST 的活性与亚型(mGST-1、mGST-2、mGST-3)表达,进而调控 HIRI 的发生发展,目前尚未明确。

为探讨 NO 供体是否通过调控 mGST 的活性与基因表达,发挥对抗 HIRI 的保护作用,本研究构建大鼠在体肝脏缺血再灌注模型,选用长效 NO 供体 DETA-NONOate 进行干预。该供体可稳定释放生理浓度的 NO,有助于避免高浓度 NO 可能引起的细胞毒性干扰。本研究旨在从表型特征、氧化还原状态及分子调控三个层面系统解析其保护效应:(1) 在整体水平,通过血清生化指标与组织病理学评估肝损伤程度;(2) 在通路水平,检测关键氧化应激标志物,阐明其对氧化还原状态的作用;(3) 在靶点水平,探讨 DETA-NONOate 对 mGST 酶活性及其关键亚型(mGST-1、mGST-2、mGST-3)基因表达的调控效应。本研究有望揭示 NO-mGST 调控轴在 HIRI 中的作用新机制,为制定以该轴为靶点的肝脏保护策略提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物

10~12 周龄 SPF 级健康雄性 SD 大鼠,体重 250~280 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司(生产许可证号:SCXK(湘)2021-0002)。于标准实验动物房适应性饲养 1 周,自由摄食饮水。本实验操作严格遵循中华人民共和国《实验动物管理条例》及《关于善待实验动物的指导性意见》,并在实验过程中积极落实“替代、减少、优化”(3R)原则,最大限度减少动物痛苦。

2.2. 主要试剂与仪器

DETA-NONOate (美国 Cayman 公司);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、NO 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);谷胱甘肽 S-转移酶(GST)检测试剂盒(北京盒子生物技术有限公司);核糖核酸(RNA)提取试剂盒(上海普洛麦格生物技术有限公司);mGST-1、mGST-2、mGST-3 引物(上海捷瑞生物工程有限公司合成)。主要仪器包括 REPure-A 基因扩增仪(杭州柏恒有限公司)、Nano-500 微量分光光度计(杭州奥盛有限公司)、CFX96 实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪(美国 Bio-Rad 公司)和 CMaxPlus 光吸收酶标仪(上海美谷分子有限公司)。

2.3. 分组、模型建立与干预

将 36 只大鼠按随机数字表法分为 6 组($n=6$):假手术早/晚期组、I/R 早/晚期组、I/R + DETA-NONOate 早/晚期组(简称 DETA 早/晚期组)。建立 70%肝缺血再灌注模型:2%异氟烷吸入麻醉后,开腹夹闭肝中叶与左叶肝动脉及门静脉 1h,再灌注恢复血流;假手术组仅开腹游离肝门,不阻断血流。DETA 干预组于再灌注前 5 min 尾静脉注射 0.2 mg/kg DETA-NONOate (溶于生理盐水),其余组注射等体积生理盐水。

2.4. 样本采集

分别于再灌注后 4 h (早期)和 12 h (晚期)经下腔静脉取血,离心分离血清后置于-80℃保存备用。取肝脏左叶与中叶组织,部分置于 4%多聚甲醛中固定,以备病理学检测;其余部分经液氮速冻后于-80℃保存,用于生化及分子生物学检测。

2.5. 检测指标与方法

2.5.1. 血清肝功能检测

取血清样本,按试剂盒说明书,采用酶标仪测定 ALT 和 AST 活力。

2.5.2. 肝组织病理检查

肝组织经 4%多聚甲醛固定、石蜡包埋、切片(厚度 4 μm)后行 HE 染色。参照改良 Suzuki 评分标准,由两位病理医生采用盲法,于光镜下评估肝细胞空泡变性、炎性细胞浸润及中央静脉扩张程度(0~4 分),计算每个样本的平均分。评分者间一致性通过组内相关系数(ICC)评估, $\text{ICC} > 0.85$ 为一致性良好。

2.5.3. 氧化应激指标检测

制备 10%肝组织匀浆,按试剂盒说明书测定 MDA、GSH、GSSG 含量,并计算 GSH/GSSG 比值。

2.5.4. 肝组织 NO 含量测定

采用硝酸还原酶法,通过检测肝匀浆中亚硝酸盐(NO_2^-)与硝酸盐(NO_3^-)总量,间接反映 NO 水平。

2.5.5. mGST 活性测定

采用差速离心法分离肝微粒体,以 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)为底物,按试剂盒说明书测定 mGST 活性。

2.5.6. 实时荧光定量 PCR(qPCR)检测

提取肝组织总 RNA,反转录为 cDNA 后,以磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为内参,使用 SYBR Green 预混液在实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算 mGST-1、mGST-2、mGST-3 mRNA 相对表达量。

2.6. 统计学分析

采用 SPSS22.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。数据正态性检验采用 Shapiro-Wilk 检验,方差齐性检验采用 Levene 检验。多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 Tukey 检验。跨期组内比较采用两独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 血清 ALT、AST 活性水平比较

与同期假手术组相比,早期和晚期 I/R 组 AST、ALT 活力均显著升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);而与同期 I/R 组相比,早期和晚期 DETA 干预组 AST、ALT 活力均显著下降,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。跨期比较显示,I/R 组与 DETA 组晚期 AST 水平均显著高于早期,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);但是三组的 ALT 水平在早期与晚期之间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 1。

Table 1. Comparison of serum AST and ALT activities in rats of different groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 1. 不同组别大鼠血清 AST 及 ALT 活力值比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

指标	时期	假手术组	I/R 组	DETA 干预组	同期组间比较	
					F 值	P 值
AST	早期	14.814 $\pm$ 7.469	81.106 $\pm$ 7.898 ^a	57.712 $\pm$ 4.976 ^{ab}	142.358	<0.001
	晚期	22.445 $\pm$ 7.402	109.105 $\pm$ 15.269 ^a	81.429 $\pm$ 12.260 ^{ab}	80.466	<0.001
跨期比较	t 值	-1.778	-3.990	-4.390	-	-
	P 值	0.106	0.003	0.004	-	-
ALT	早期	8.260 $\pm$ 2.752	94.356 $\pm$ 12.815 ^a	50.392 $\pm$ 7.748 ^{ab}	143.900	<0.001
	晚期	11.117 $\pm$ 3.174	100.382 $\pm$ 10.419 ^a	60.347 $\pm$ 9.244 ^{ab}	176.319	<0.001

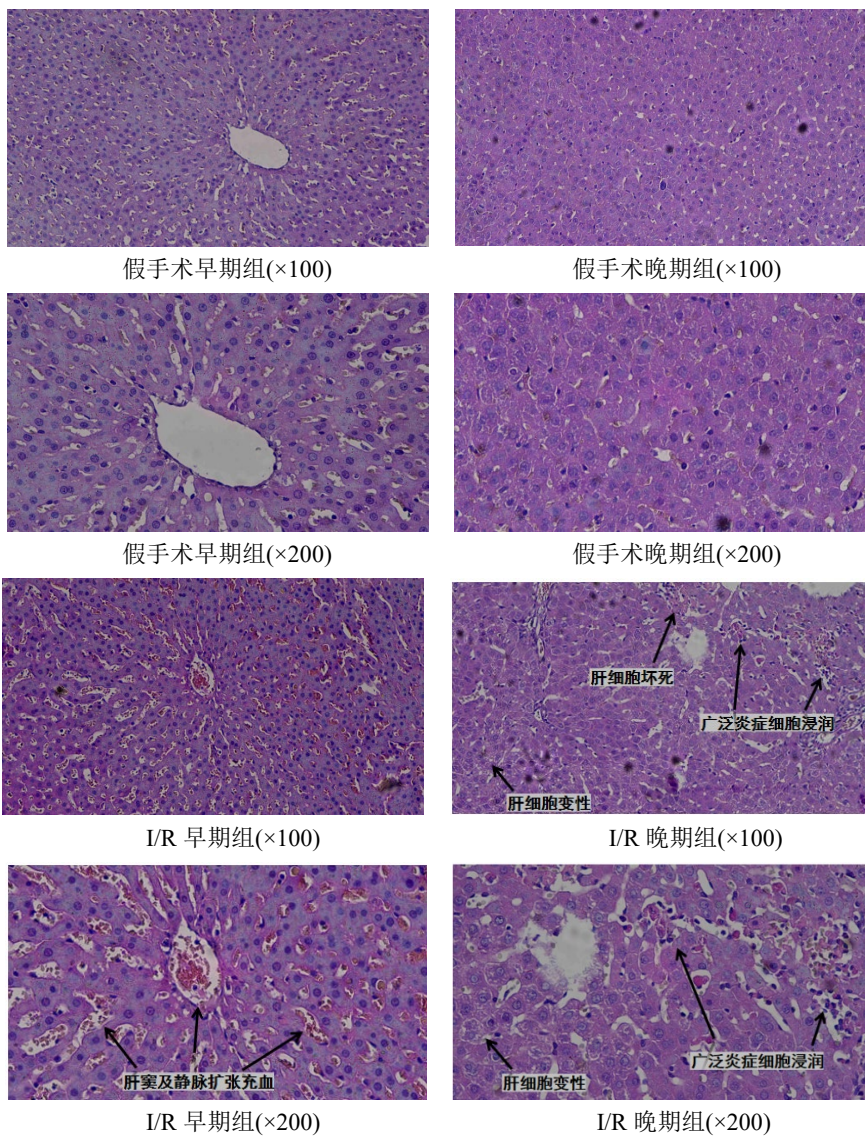
续表

跨期比较	<i>t</i> 值	-1.666	-0.894	-2.022	-	-
	<i>P</i> 值	0.127	0.393	0.071	-	-

注：^a与同期假手术组比较， $P < 0.05$ ；^b与同期 I/R 组比较， $P < 0.05$ 。

3.2. 肝组织病理学损伤评估比较

肝组织 HE 染色切片观察显示，假手术组肝组织结构正常；I/R 组呈现典型的缺血再灌注损伤特征，包括明显的肝细胞坏死、炎细胞浸润及肝窦扩张充血；DETA 干预组上述病理改变均显著减轻。见图 1。病理评分结果显示：与同期假手术组相比，早期和晚期 I/R 组的损伤评分均显著升高，差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)；与同期 I/R 组相比，早期和晚期 DETA 干预组的损伤评分均显著降低，差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。跨期比较显示，I/R 组与 DETA 干预组的损伤评分在早期与晚期之间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 2。



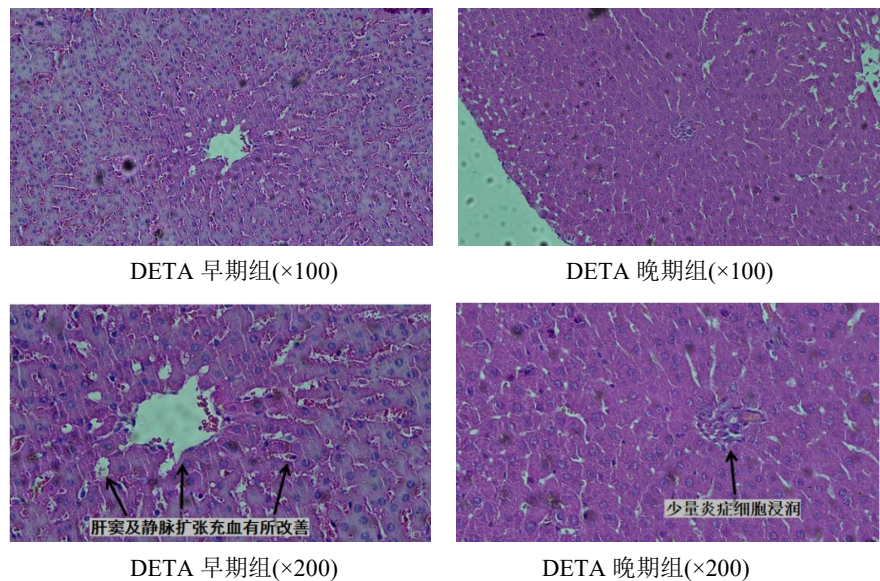


Figure 1. HE staining of rat liver tissues in each group
图 1. 各组大鼠肝脏 HE 染色

Table 2. Comparison of liver injury severity (Suzuki score) in rats among different groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
表 2. 不同组别大鼠肝脏损伤程度(Suzuki 评分)比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	假手术组	I/R 组	DETA 干预组	同期组间比较	
				F 值	P 值
早期	0.667 $\pm$ 0.299	3.000 $\pm$ 0.295 ^a	1.627 $\pm$ 0.299 ^{ab}	92.491	<0.001
晚期	0.333 $\pm$ 0.299	3.000 $\pm$ 0.209 ^a	1.333 $\pm$ 0.299 ^{ab}	146.400	<0.001
跨期比较	t 值	1.927	0.001	1.927	-
	P 值	0.083	0.098	0.083	-

注: ^a与同期假手术组比较, $P < 0.05$; ^b与同期 I/R 组比较, $P < 0.05$ 。

3.3. 氧化应激水平比较

与同期假手术组相比, I/R 组 GSSG、MDA 水平均显著升高, 而 GSH 及 GSH/GSSG 比值均显著降低, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 与同期 I/R 组相比, DETA 干预组 GSSG、MDA 水平均显著降低, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), GSH 水平、GSH/GSSG 比值均显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。跨期比较结果显示, 假手术组各指标早、晚期差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$); I/R 组晚期 GSH 水平及 GSH/GSSG 比值较早期均显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 在 DETA 干预组中, 晚期 GSH 与 GSSG 水平均较早期显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 而 GSH/GSSG 比值与 MDA 水平在早、晚期之间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 3。

3.4. mGST 活性及其亚型基因表达比较

各组间 mGST 活力及其亚型(mGST-1、mGST-2、mGST-3)的 mRNA 表达水平差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。组间比较显示: 与同期假手术组相比, I/R 组 mGST 活力显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而 mGST-1 (早期)、mGST-2 (早、晚期)和 mGST-3 (早期)基因表达显著降低, 差异均有统计学意义。

义(均 $P < 0.05$)；与同期 I/R 组相比，DETA 干预组 mGST 活力在早、晚期均显著降低，差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)，而 mGST-1 (晚期)、mGST-2 (晚期)和 mGST-3 (早、晚期)的 mRNA 表达水平显著升高，差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。跨期比较显示，晚期 I/R 组与 DETA 干预组 mGST 活力均较早期显著升高，差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)；晚期 DETA 干预组 mGST-1、mGST-2 和 mGST-3 基因表达水平均显著高于早期，差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。见表 4。

Table 3. Comparison of GSH, GSSG, GSSG/GSH ratio and MDA levels in rats among different groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
表 3. 不同组别大鼠 GSH、GSSG、GSSG/GSH 比值及 MDA 比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

指标	时期	假手术组	I/R 组	DETA 干预组	同期组间比较	
					F 值	P 值
GSH	早期	14.767 ± 3.759	9.265 ± 2.350 ^a	12.840 ± 0.198 ^b	7.126	0.007
	晚期	17.529 ± 0.857	12.187 ± 1.524 ^a	17.421 ± 3.411 ^b	11.423	0.001
跨期比较	t 值	-1.754	-2.556	-3.284	-	-
	P 值	0.134	0.029	0.022	-	-
GSSG	早期	24.498 ± 2.665	70.695 ± 5.373 ^a	34.232 ± 1.825 ^{ab}	271.668	< 0.001
	晚期	28.623 ± 4.949	72.658 ± 2.981 ^a	40.135 ± 3.017 ^{ab}	220.963	< 0.001
跨期比较	t 值	-1.798	-0.783	-4.101	-	-
	P 值	0.102	0.452	0.002	-	-
GSH/GSSG	早期	0.597 ± 0.096	0.128 ± 0.025 ^a	0.375 ± 0.015 ^{ab}	97.688	< 0.001
	晚期	0.625 ± 0.088	0.167 ± 0.016 ^a	0.433 ± 0.062 ^{ab}	80.803	< 0.001
跨期比较	t 值	-0.532	-3.159	-2.255	-	-
	P 值	0.606	0.010	0.068	-	-
MDA	早期	0.385 ± 0.070	0.861 ± 0.033 ^a	0.555 ± 0.067 ^{ab}	99.932	< 0.001
	晚期	0.378 ± 0.069	0.892 ± 0.087 ^a	0.482 ± 0.054 ^b	87.288	< 0.001
跨期比较	t 值	0.164	-0.803	2.074	-	-
	P 值	0.873	0.441	0.065	-	-

注：^a与同期假手术组比较， $P < 0.05$ ；^b与同期 I/R 组比较， $P < 0.05$ 。

Table 4. Comparison of mGST activity and its subtype gene expression in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
表 4. 各组大鼠 mGST 活力值及其亚型基因表达比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

指标	时期	假手术组	I/R 组	DETA 干预组	同期组间比较	
					F 值	P 值
mGST	早期	5.457 ± 1.670	29.365 ± 1.039 ^a	18.837 ± 1.596 ^{ab}	403.047	<0.001
	晚期	12.205 ± 0.262	31.832 ± 2.357 ^a	21.940 ± 1.996 ^{ab}	180.436	<0.001
跨期比较	t 值	-9.781	-2.346	-2.975	-	-
	P 值	< 0.001	0.041	0.014	-	-

续表

mGST-1	早期	1.060 ± 0.333	0.618 ± 0.252 ^a	0.600 ± 0.109 ^a	6.562	0.009
	晚期	1.008 ± 0.257	0.535 ± 0.163	5.495 ± 0.933 ^{ab}	140.129	<0.001
跨期比较	<i>t</i> 值	0.304	0.681	-12.767	—	—
	<i>P</i> 值	0.767	0.512	< 0.001	—	—
mGST-2	早期	1.036 ± 0.303	0.056 ± 0.015 ^a	0.044 ± 0.006 ^a	63.325	<0.001
	晚期	1.038 ± 0.316	0.495 ± 0.060 ^a	1.859 ± 0.406 ^{ab}	31.594	<0.001
跨期比较	<i>t</i> 值	-0.007	-17.433	-10.946	—	—
	<i>P</i> 值	0.994	< 0.001	< 0.001	—	—
mGST-3	早期	1.265 ± 0.441	0.081 ± 0.025 ^a	0.028 ± 0.009 ^{ab}	45.091	<0.001
	晚期	1.163 ± 0.309	0.974 ± 0.241	12.154 ± 2.126 ^{ab}	157.742	<0.001
跨期比较	<i>t</i> 值	0.465	-9.030	-13.968	—	—
	<i>P</i> 值	0.652	< 0.001	< 0.001	—	—

注: ^a与同期假手术组比较, $P < 0.05$; ^b与同期 I/R 组比较, $P < 0.05$ 。

3.5. NO 水平比较

组间比较显示,与同期假手术组相比,I/R 组与 DETA 干预组的 NO 含量在早期与晚期均显著降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。跨期比较结果显示,晚期假手术组 NO 含量显著高于早期,差异有统计学意义($P = 0.016$);而 I/R 组与 DETA 干预组 NO 含量在早期与晚期之间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 5。

Table 5. Comparison of NO contents in rats of different groups ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表 5. 不同组别大鼠 NO 含量比较($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	假手术组	I/R 组	DETA 干预组	同期组间比较	
				<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
早期	0.163 ± 0.038	0.106 ± 0.031 ^a	0.113 ± 0.029 ^a	5.385	0.017
晚期	0.225 ± 0.037	0.083 ± 0.024 ^a	0.091 ± 0.027 ^a	42.843	< 0.001
跨期比较	<i>t</i> 值	-2.880	1.392	1.332	
	<i>P</i> 值	0.016	0.194	0.213	

注: ^a与同期假手术组比较, $P < 0.05$ 。

4. 讨论

本研究发现 DETA-NONOate 对肝脏 I/R 损伤具有保护作用。与 I/R 模型组相比,DETA 干预不仅降低了血清 ALT 和 AST 水平,也减轻了肝组织的病理损伤,包括肝细胞坏死、炎症浸润及肝窦充血。表明 DETA-NONOate 能够有效维持肝细胞结构的完整并抑制损伤相关的炎症进程。

氧化应激指标结果显示,DETA-NONOate 干预能显著逆转 I/R 引起的氧化应激失衡:提升抗氧化物

质 GSH 水平、降低氧化产物 GSSG 及脂质过氧化终产物 MDA 的含量,从而使失衡的 GSH/GSSG 比值得以恢复。这一发现与既往相关研究报道一致[9] [13]。因此,改善肝脏氧化还原稳态、拮抗脂质过氧化可能是 DETA-NONOate 发挥其肝保护作用的重要机制之一。

本研究进一步在分子层面分析了 DETA-NONOate 对 mGST 系统的影响。与假手术组相比,I/R 损伤使 mGST 总活性持续升高,提示这可能是机体应对氧化应激的一种代偿性反应。而 DETA 干预组中,这一异常升高的趋势被显著抑制。值得注意的是,mGST 系统在基因转录水平与酶活性方面存在时相上的“解耦”现象。在损伤早期(4 h),I/R 与 DETA 干预组中 mGST-1、mGST-2、mGST-3 基因转录均普遍受抑,可能与急性应激下核心转录因子 Nrf2 未被激活或快速耗竭有关。Kudoh 等研究发现,小鼠肝 I/R 后 Nrf2 缺失可导致 GSTm1 等抗氧化酶诱导表达完全消失[14],与我们观察到的 mGST 亚型早期普遍抑制现象一致。然而,在损伤晚期(12 h),DETA 干预组中上述三种 mGST 亚型的 mRNA 水平显著上调,而总酶活性仍被有效抑制,呈现出“转录重塑”的特征。这种“先功能抑制,后转录重塑”的时相调控特征表明 DETA 可能通过多重机制协调 mGST 系统。晚期 mGST 亚型转录的上调,与氧化应激后内源性抗氧化防御程序的激活规律相符,该过程可能涉及 Nrf2/ARE 等核心抗氧化信号通路的参与[15] [16]。但转录上调并未同步转化为酶的活性升高,提示转录后调控环节可能也参与了对 mGST 系统的调节。翻译后修饰是转录后调控的重要方式之一。NO 可通过 S-亚硝基化等多种翻译后修饰方式快速调节靶蛋白的活性、稳定性及相互作用[9]。相关文献报道,NO 供体 DEA/NO 及 GSNO 可通过 S-亚硝基化修饰大鼠肝脏微粒体 GST 第 49 位半胱氨酸残基,使其酶活性升高约 2 倍,且该效应可被还原剂 DTT 完全逆转[17]。结合本研究的发现,推测 S-亚硝基化修饰可能是调控 mGST 功能的一种快速可逆机制。基于此,我们提出一个工作假说:在 I/R 损伤后期,DETA 释放的 NO 可能通过 Nrf2/ARE 通路激活转录,同时借助 S-亚硝基化对酶蛋白功能进行即时微调,从而实现对 mGST 系统的精准与动态控制。这一假说有待后续实验验证。

本研究中 DETA-NONOate 虽显著减轻了肝 I/R 损伤,但未逆转 I/R 导致的肝组织总 NO 含量下降。这一现象可能与以下因素有关:总 NO 含量反映的是多种亚型 NOS(包括 eNOS、iNOS)的综合活性,而外源性 NO 供体 DETA 的贡献难以通过总 NO 检测体现[9];I/R 后期,内源性 NO 生成可能已受到不可逆损伤,外源性 NO 供体释放的 NO 难以在总 NO 检测中检出[7];此外,NO 的生物活性高度依赖其时空分布,局部微环境中的 NO 变化可能无法被总 NO 检测捕捉到[8]。因此,本研究中肝保护作用与总 NO 水平的不一致,进一步支持了 DETA 可能通过亚细胞定位或翻译后修饰等精细调控机制发挥作用。这一推测与本研究中观察到的 mGST 系统在转录与活性层面的“时相解耦”现象相呼应。

本研究也存在一定局限性。由于实验条件所限,未直接检测 mGST 蛋白的 S-亚硝基化修饰水平及 Nrf2 的核转位状态。后续研究可采用 Western Blot 技术检测肝组织中 Nrf2 在胞核与胞质中的分布,并利用生物素转换法(biotin-switch assay)检测 mGST 蛋白的 S-亚硝基化程度,以进一步验证本研究所提出的机制假说。未来研究还可通过检测亚细胞器 NO 分布、特定蛋白质 S-亚硝基化修饰谱及硝化应激标志物(如 3-硝基酪氨酸),进一步阐明 DETA 的精准作用机制[7]-[9]。

5. 结论

NO 供体 DETA-NONOate 可有效减轻肝脏缺血再灌注损伤。其保护作用机制涉及两方面:(1)DETA-NONOate 可改善氧化应激,恢复 GSH/GSSG 平衡,并降低 MDA 水平;(2) 其在抑制 I/R 诱导的 mGST 总活性异常升高的同时,于再灌注晚期(12 h)特异性上调 mGST-1、mGST-2 及 mGST-3 基因的转录水平,这一调控模式可能与其减轻肝损伤的作用密切相关。本研究可为肝脏 I/R 损伤防治提供新的理论依据。

声 明

本文所有作者均声明不存在利益冲突。

致 谢

本研究得到江西省教育厅科学技术研究项目(项目编号: GJJ2203409)的资助。感谢南昌大学抚州医学院慢性病研究重点实验室提供的实验平台支持, 感谢杨树龙教授在实验设计和论文撰写过程中给予的指导与帮助。感谢课题组成员在动物实验、指标检测及数据分析中的辛勤付出。同时, 向所有参考文献的作者致以诚挚的谢意。

基金项目

江西省教育厅科学技术研究项目“NO 供体对大鼠肝脏缺血再灌注损伤早期微粒体谷胱甘肽 S-转移酶的作用机制研究”(项目编号: GJJ2203409)。

参考文献

- [1] Zhao, B., Wei, J., Jiang, Z., Long, Y., Xu, Y. and Jiang, B. (2025) Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: An Emerging Therapeutic Strategy for Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. *Stem Cell Research & Therapy*, **16**, Article No. 178. <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04302-9>
- [2] George, J., Lu, Y., Tsuchishima, M. and Tsutsumi, M. (2024) Cellular and Molecular Mechanisms of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury: The Role of Oxidative Stress and Therapeutic Approaches. *Redox Biology*, **75**, Article 103258. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103258>
- [3] Choi, E.K. and Lim, D.G. (2023) Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury with Respect to Oxidative Stress and Inflammatory Response: A Narrative Review. *Journal of Yeungnam Medical Science*, **40**, 115-122. <https://doi.org/10.12701/jyms.2022.00017>
- [4] de Oliveira, T.H.C. and Gonçalves, G.K.N. (2025) Liver Ischemia Reperfusion Injury: Mechanisms, Cellular Pathways, and Therapeutic Approaches. *International Immunopharmacology*, **150**, Article 114299. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2025.114299>
- [5] Forstermann, U. and Sessa, W.C. (2012) Nitric Oxide Synthases: Regulation and Function. *European Heart Journal*, **33**, 829-837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>
- [6] Zhang, Y.P., Liu, X.R., Yang, M.W., Yang, S.L., Hong, F.F., *et al.* (2022) New Progress in Understanding Roles of Nitric Oxide during Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. *World Journal of Hepatology*, **14**, 504-515. <https://doi.org/10.4254/wjh.v14.i3.504>
- [7] Pacher, P., Beckman, J.S. and Liaudet, L. (2007) Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiological Reviews*, **87**, 315-424. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>
- [8] Radi, R. (2018) Oxygen Radicals, Nitric Oxide, and Peroxynitrite: Redox Pathways in Molecular Medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **115**, 5839-5848. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>
- [9] Lee, H.M., Choi, J.W. and Choi, M.S. (2021) Role of Nitric Oxide and Protein S-Nitrosylation in Ischemia-Reperfusion Injury. *Antioxidants*, **11**, Article 57. <https://doi.org/10.3390/antiox11010057>
- [10] Alope, C., Onisuru, O.O. and Achilonu, I. (2024) Glutathione S-Transferase: A Versatile and Dynamic Enzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **734**, Article 150774. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.150774>
- [11] Imaizumi, N., Miyagi, S. and Aniya, Y. (2006) Reactive Nitrogen Species Derived Activation of Rat Liver Microsomal Glutathione S-Transferase. *Life Sciences*, **78**, 2998-3006. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.11.026>
- [12] Schaffert, C.S. (2011) Role of MGST1 in Reactive Intermediate-Induced Injury. *World Journal of Gastroenterology*, **17**, 2552-2557. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i20.2552>
- [13] Björnsson, B., Bojmar, L., Olsson, H., Sundqvist, T. and Sandström, P. (2015) Nitrite, a Novel Method to Decrease Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat Liver. *World Journal of Gastroenterology*, **21**, 1775-1783. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i6.1775>
- [14] Kudoh, K., Uchinami, H., Yoshioka, M., Seki, E. and Yamamoto, Y. (2014) Nrf2 Activation Protects the Liver from Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. *Annals of Surgery*, **260**, 118-127. <https://doi.org/10.1097/sla.0000000000000287>
- [15] 孟千港, 肖梦柔, 赵媛. 核转录因子红系 2 相关因子 2 在肝缺血再灌注损伤中的作用及麻醉药物干预的研究进

-
- 展[J]. 中国医药导报, 2024, 21(7): 61-64.
- [16] Liu, D., Zhang, R., Zha, L., Yao, L., Han, Y., Zhang, X., *et al.* (2025) Nrf2-Activated Mitophagy and Ferroptosis Suppression Synergistically Mediate Tangeretin's Protection against Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. *Phytomedicine*, **145**, Article 157034. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2025.157034>
- [17] Ji, Y., Toader, V. and Bennett, B.M. (2002) Regulation of Microsomal and Cytosolic Glutathione S-Transferase Activities by S-Nitrosylation. *Biochemical Pharmacology*, **63**, 1397-1404. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)00879-1](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)00879-1)