

灵芝多糖对糖尿病肾病小鼠的改善作用及机制研究

马广礼*, 夏晓培

许昌职业技术学院医疗卫生学院, 许昌 461000

摘要:研究了灵芝多糖(*Ganoderma lucidum* polysaccharide, GLP)对糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)小鼠的作用。成功构建 DN 小鼠模型后 GLP 干预。检测小鼠空腹血糖和 24 h 尿蛋白含量,测定尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和肌酐(serum creatinine, Scr)水平,结合伊红和马松染色观察肾脏病理形态,采用酶联免疫吸附试验测定肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)和白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)的水平,使用蛋白免疫印迹法检测晚期糖基化终产品受体(receptor for advanced glycation end-products, RAGE)、IV 型胶原蛋白(collagen type IV, COL-IV)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)蛋白的表达含量。DN 组小鼠空腹血糖、24 h 尿蛋白、BUN 和 Scr 及其肾组织中 TNF- α 和 IL-6 水平均升高($P < 0.05$),血清中 IL-10 水平降低($P < 0.05$),RAGE、COL-IV 和 iNOS 蛋白的表达量升高($P < 0.05$);而治疗组小鼠病理损伤及纤维化改变均有改善,定量指标得到好转。GLP 可以改善 DN 小鼠,机制与抑制 RAGE 信号通路有关。

关键词:灵芝多糖;RAGE 信号;糖尿病肾病;炎症

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)6-0938-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.6.003

Study on the improvement effect and mechanism of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on diabetic nephropathy in mice

MA Guang-li*, XIA Xiao-pei

College of Medical and Health, Xuchang Vocational Technical College, Xuchang 461000, China

Abstract: The study investigated the effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP) on diabetic nephropathy (DN) in mice. After successfully establishing a DN mouse model, GLP intervention was administered. The fasting blood glucose and 24-hour urinary protein content of the mice were measured, and the levels of blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (Scr) were determined. Eosin and Masson's trichrome staining were used to observe the renal pathological morphology. Enzyme-linked immunosorbent assay was employed to measure the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-10 (IL-10). Western blot was utilized to detect the expression of receptor for advanced glycation end-products (RAGE), collagen type IV (COL-IV), and inducible nitric oxide synthase (iNOS). Mice in the DN group exhibited increased levels of fasting blood glucose, 24-hour urinary protein, BUN, and Scr as well as elevated levels of TNF- α and IL-6 in renal tissue ($P < 0.05$), and decreased levels of serum IL-10 ($P < 0.05$). The expression of RAGE, COL-IV, and iNOS proteins was also increased ($P < 0.05$). In contrast, mice in the treatment group showed improvements in pathological damage and fibrosis, with quantitative indicators showing significant amelioration. GLP could ameliorate DN in mice, and the mechanism is associated with the inhibition of the RAGE signaling pathway.

Key words: *Ganoderma lucidum* polysaccharide; RAGE signaling; diabetic nephropathy; inflammation

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病患者最常见的微血管并发症之一,其导致的肾功

能损害是全球范围内致残和致死的主要原因之一^[1]。尽管在过去几十年中, DN 的治疗取得了一些进展,但仍然存在着一系列的挑战。传统的治疗方法往往仅仅通过控制血糖和血压来延缓疾病的进展,而并未能有效地治愈或逆转其发展^[2]。此外,部分患者对于当前的治疗手段可能会出现耐药性或

收稿日期:2024-03-14

接受日期:2024-05-13

基金项目:河南省高等教育教学改革研究与实践项目(2019SJG LX716)

* 通信作者 Tel:86-018637427272; E-mail:mgl8202@163.com

不良反应^[3],因此迫切需要寻找新的治疗策略。

灵芝是一种传统的中草药,被广泛用于亚洲和其他地区的中医传统治疗中^[4]。其主要有效成分之一是灵芝多糖(*Ganoderma lucidum* polysaccharide, GLP)。GLP作为一种从中药灵芝中提取的天然有效成分,因其具有增强免疫功能、抗肿瘤、抗氧化等多方面的药理活性,被广泛认为可以发挥潜在的治疗糖尿病及其并发症的能力^[5,6]。研究表明,GLP能够通过多种途径发挥其作用,包括调节免疫系统、抗炎和抗氧化等^[7-9]。这些活性成分在实验室研究和临床实践中显示出一定的治疗潜力,尤其是在糖尿病相关疾病的治疗方面^[10]。这些特性使得GLP成为一个有望用于DN治疗的天然药物。

在DN这一发展过程中,晚期糖基化终产品受体(receptor for advanced glycation end-products, RAGE)、IV型胶原蛋白(collagen type IV, COL-IV)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达变化起着关键作用。RAGE作为多种糖尿病并发症的分子介质,其激活可加剧炎症反应和氧化应激,促进肾脏损伤^[11]。COL-IV是构成肾小球基底膜的重要成分,其异常积聚与肾小球硬化有关^[12]。iNOS的过度表达则与肾脏炎症和细胞凋亡密切相关^[13]。因此,检测这些蛋白的表达情况对于理解DN的病理进展至关重要,也为探索新的治疗靶点提供了可能。

本研究为了评估GLP对DN的潜在治疗效果,利用高脂饲料联合链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱导的DN小鼠模型,并探索其作用机制,所以特别设置了氨基胍组作为阳性对照。通过将GLP的效果与氨基胍进行比较,可以初步评估GLP在治疗DN方面的潜力和效果。空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)是在进食(通常为8~12 h)之后的空腹状态下测得的血糖水平,这通常用于评估糖尿病的诊断和管理^[14]。24 h尿蛋白(24 hours urine total protein, 24 h UTP)是在24 h内通过尿液排出的总蛋白质的量,在研究DN等肾脏疾病时,尿糖排泄量的增加可能反映肾小球滤过膜的受损情况^[15]。尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)是血液中尿素氮的浓度,这水平的升高可能表明肾脏滤过功能的下降、肾脏疾病、脱水、高蛋白饮食和其他因素的存在^[16]。肌酐(serum creatinine, Scr)即血清肌酐,该水平通常用作评估肾小球滤过率的指标,肌酐水平的升高可

以提示肾功能减退^[17]。我们将通过检测FBG、24 h UTP、BUN和Scr水平,以及通过组织学和分子生物学方法来评估肾脏的病理学改变和相关蛋白的表达水平。我们猜测GLP可能通过抑制RAGE信号通路来改善DN的发展。本研究的开展将有助于填补目前对于DN治疗方面的知识空白,并为未来的临床实践提供理论和实践基础。同时,本研究也为探索更广泛的天然药物治疗糖尿病及其并发症提供了新的方向和可能性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

40只无菌级C57小鼠,6~8周龄,雄性,体重(220±30)g,来源于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2012-0001。

GLP(纯度≥99%,北京康泰合元生物技术有限公司);STZ(批号:25316-40-9,美国MCE公司);氨基胍药(批号:079K1734V,纯度100%,美国Sigma公司);FBG试纸(批号:2718-21-2,拜耳医药保健有限公司);肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)和白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)检测试剂盒(批号:21037281、28762543和29715821,上海麦克林生化科技有限公司);小鼠24 h UTP检测试剂盒(批号:20190619)、小鼠Scr检测试剂盒(批号:20191008)和小鼠BUN(批号:201909)(南京建成生物工程研究所);伊红和马松染色试剂盒(批号:20210820、20210822,北京索莱宝科技有限公司);RAGE(批号:378CD12,武汉泰克生物科技有限公司);COL-IV(批号:1187-26-G)、iNOS(批号:286712-A)(三鹰生物技术有限公司)。

1.2 仪器与设备

Bio-Rad 164-5050型凝胶电泳仪(美国Bio-Rad公司);EVOS M 5000型智能细胞成像系统(美国Thermo Fisher Scientific公司);Contour TS型血糖仪(拜耳医药保健有限公司);Microfugu 20R型高速冷冻离心机(美国Beckman Coulter公司);Bio-Rad 164-5050型凝胶电泳仪(美国Bio-Rad公司);1510型全波长酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型建立与分组

40只C57小鼠适应性饲养1周后,随机选取10只作为对照组,给予普通饲料饲养,剩下30只给予

高脂饲料饲养 4 周后,腹腔注射 1% STZ (35 mg/kg) 溶液,72 h 后尾静脉取血检测 FBG,FBG 值 ≥ 16.7 mmol/L 则为糖尿病模型造模成功^[18]。将造模成功的小鼠随机分为糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 组、氨基胍 (aminoguanidine, AG) 组和糖尿病肾病 + 灵芝多糖 (diabetic nephropathy + *Ganoderma lucidum* polysaccharide, DN + GLP) 组,每组 10 只。各组灌胃给予相应药物,对照 (control, Con) 组和 DN 组给予等体积生理盐水,均按 100 mg/kg 体积连续灌胃 16 周^[19]。

1.3.2 检测 DN 小鼠 FBG 和 24 h UTP 水平

在造模前及给药 16 周后,各组小鼠禁食 12 h, 然后进行静脉采血以检测小鼠 FBG。在造模开始后的第 3 天以及给药 16 周后,收集尿标本,离心后取上清液,使用终点法检测 UTP 的浓度。将 UTP 浓度乘以 24 h 尿量得出 24 h 尿热原排泄量。

1.3.3 DN 小鼠的取材

在完成步骤“1.3.2”之后,各组小鼠腹腔注射戊巴比妥麻醉,随后采集眼眶血样至乙二胺四乙酸抗凝管中。离心后,上清血清置于 -80 °C 冰箱冻存,以供炎症因子 (TNF- α 、IL-6 和 IL-10) 检测使用。未添加抗凝剂的血清样本则用于生化指标检测。随后,迅速分离肾组织,将其分成两部分,一部分用于病理学观察,另一部分用于蛋白免疫印迹法。

1.3.4 检测 DN 小鼠 BUN 和 Scr 的水平

收集步骤“1.3.3”收集的血清,利用全自动生化仪进行 BUN 和 Scr 的含量检测。通过定期监测 Scr 和 BUN 的变化,可以及早发现肾功能异常,并及时调整治疗方案,以减轻肾脏损伤和促进康复。

1.3.5 检测 DN 小鼠肾组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 水平

取 -80 °C 冰箱冻存的肾组织,加入适量的裂解液置于研磨机中 3 min,取上清液。再按照试剂盒说明书进行操作,检测组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 的水平。再绘制标准曲线并通过四参数曲线拟合构建方程,用酶标仪测定各孔吸光度值,代入回归方程计算样品浓度。

1.3.6 观察 DN 小鼠肾组织中的糖类分布情况

碘酸雪夫染色,一般用来显示糖原和其他多糖物质。石蜡切片脱蜡至水;蒸馏水洗;过碘酸酒清液 10 min;自来水冲洗 10 min;Schiff 氏液 10 min;流水冲洗 5 min;用哈瑞苏木精染核 3 min (细胞核染色

过深可用盐酸酒精分化);流水冲洗 5 min;常规脱水、透明、封固后,置于显微镜下观察。

1.3.7 观察 DN 小鼠肾脏病理损伤形态

(1) 伊红染色方法:取 DN 小鼠的肾脏组织标本,固定 10% 中性福尔马林中,将固定的组织标本脱水并清理,并在石蜡中浸渍以制备组织切片将切片置于水中,然后用伊红染色,再将切片在酸性溶液中漂洗后用伊红染色。最后,将切片在不同浓度的乙醇和透明剂中脱水和清洗,并用封片剂封装,以保护组织并在显微镜下观察。

(2) 马松染色方法:取 DN 小鼠的肾脏组织标本,固定在 10% 福尔马林中,进行脱水、清理和包埋处理,以制备组织切片。将切片置于水中,在酸性条件下用染料 fuchsin 酸染,再切片在磷钨酸溶液中浸泡,在铁铵溶液中漂洗。将切片在酒精和透明剂中脱水和清洗,并用封片剂封装,以保护组织并在显微镜下观察。

1.3.8 检测 DN 小鼠肾组织中 RAGE、COL-IV 和 iNOS 蛋白的表达情况

将肾组织样本取出并研磨成粉末状,然后加入一定量的蛋白提取缓冲液、蛋白酶抑制剂和磷酸酯酶抑制剂,使用研磨机彻底裂解细胞,释放蛋白质。使用蛋白测定试剂盒方法,测定提取的蛋白质含量。再将等量的蛋白样品加载到电泳凝胶中,进行电泳分离后转膜,将转膜置于非脱脂奶粉的缓冲液中封闭 1 h,再使用特异性的一抗抗体 (RAGE、COL-IV 和 iNOS 的抗体) 孵育。第二天再常温孵育二抗 1 h 后,使用化学发光仪获取蛋白条带的图像。

1.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,比较采用方差分析,两两比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 GLP 对 DN 小鼠血清中 FBG 和 24 h UTP 水平

如表 1 所示,在造模前一个月,各组小鼠的 FBG 还没有明显的差异性 ($P > 0.05$)。然而,在造模后的各时间点,与对照组相比,所有的 DN 组小鼠的 FBG 均显著升高 ($P < 0.01$);与 DN 组相比,各治疗干预组的 FBG 有明显降低 ($P < 0.05$)。

如表 2 所示,在造模后的第 8 周,与对照组相比, DN 组小鼠的 24 h UTP 显著升高 ($P < 0.01$);与 DN 组相比, DN + GLP 小鼠的 24h UTP 均明显下降 ($P < 0.05$)。

表1 GLP对DN小鼠FGB水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 1 Effect of GLP on FBG in DN mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	FGB(mmol/L)				
	3天3 days	4周4 weeks	8周8 weeks	12周12 weeks	16周16 weeks
Con	4.56 ± 0.53	5.54 ± 0.25	4.21 ± 0.24	4.28 ± 0.32	4.72 ± 0.42
DN	5.84 ± 1.12	8.32 ± 2.13	28.24 ± 3.26 ^{##}	26.72 ± 3.38 ^{##}	28.42 ± 3.32 ^{##}
AG	6.25 ± 1.14	7.13 ± 2.21	17.72 ± 3.24 [*]	15.81 ± 4.28 [*]	13.36 ± 4.18 ^{**}
DN + GLP	6.14 ± 0.28	6.24 ± 3.12	16.16 ± 2.86 [*]	12.42 ± 3.24 ^{**}	10.42 ± 5.26 ^{**}

注:与Con比较,^{##} $P < 0.01$;与DN比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with hCon, ^{##} $P < 0.01$; Compared with DN, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

表2 GLP对DN小鼠中24hUTP的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 2 Effect of GLP on 24h UTP in DN mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	24 h UTP(mg/24 h)				
	3天3 days	4周4 weeks	8周8 weeks	12周12 weeks	16周16 weeks
Con	7.81 ± 2.16	7.91 ± 1.54	7.71 ± 1.14	7.28 ± 1.16	7.21 ± 1.12
DN	6.72 ± 2.32	8.12 ± 2.21	14.81 ± 3.23 [#]	26.48 ± 3.32 ^{##}	37.39 ± 5.21 ^{##}
AG	6.72 ± 1.42	8.36 ± 1.12	9.72 ± 3.21 [*]	16.54 ± 3.32 ^{**}	25.35 ± 5.25 ^{**}
DN + GLP	7.14 ± 1.24	7.32 ± 1.21	10.14 ± 2.148 [*]	17.14 ± 2.63 ^{**}	20.26 ± 4.12 ^{**}

注:与Con比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与DN组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,下同。

Note: Compared with Con, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with DN, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, the same below.

2.2 GLP对DN小鼠血清中BUN和Scr水平的影响

BUN和Scr水平均显著升高($P < 0.01$);与DN组比较,AG组和DN + GLP组小鼠血清中BUN和Scr水

如表3所示,与对照组比较,DN组小鼠血清中水平均显著降低($P < 0.01$)。

表3 GLP对DN小鼠BUN和Scr水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 3 Effects of GLP on BUN and Scr levels in DN mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	BUN(mmol/L)	Scr(μ mol/L)
Con	13.45 ± 2.15	17.28 ± 5.56
DN	28.64 ± 2.48 ^{##}	65.36 ± 4.18 ^{##}
AG	20.46 ± 1.24 ^{**}	41.12 ± 9.48 ^{**}
DN + GLP	17.35 ± 1.21 [*]	48.16 ± 6.48 [*]

2.3 GLP对DN小鼠肾组织中TNF- α 、IL-6和IL-10水平的影响

<0.01);与DN组比较,AG组及DN + GLP组IL-6和TNF- α 的含量均明显下降,IL-10水平显著升高($P < 0.05$)。

如表4所示,与对照组比较,DN组大鼠IL-6和TNF- α 的含量均明显升高,IL-10水平显著降低(P

表4 GLP对DN小鼠中TNF- α 、IL-6和IL-10水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 4 Effect of GLP on TNF- α , IL-6 and IL-10 levels in DN mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	TNF- α (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-10(pg/mL)
Con	50.23 ± 11.12	42.33 ± 1.15	291.18 ± 14.16
DN	93.12 ± 10.16 ^{##}	57.21 ± 6.53 ^{##}	228.21 ± 10.27 ^{##}
AG	71.27 ± 10.14 ^{**}	46.28 ± 4.12 [*]	292.32 ± 10.81 [*]
DN + GLP	74.21 ± 9.12 ^{**}	44.32 ± 3.12 [*]	281.34 ± 9.25 [*]

2.4 GLP 对 DN 小鼠肾组织中糖原分布的影响

与对照组比较, DN 组小鼠肾组织中胞浆呈红色或深红色, 主要分布在细胞质中, 观察到明显增加的糖原含量; 与 DN 组比较, 各药物治疗组小鼠肾组

织中胞浆明显无色或者呈现淡红色, 且部位很少, 糖原分布的区域有所减少, 也表明组织中糖原的含量有所减少(见图 1)。

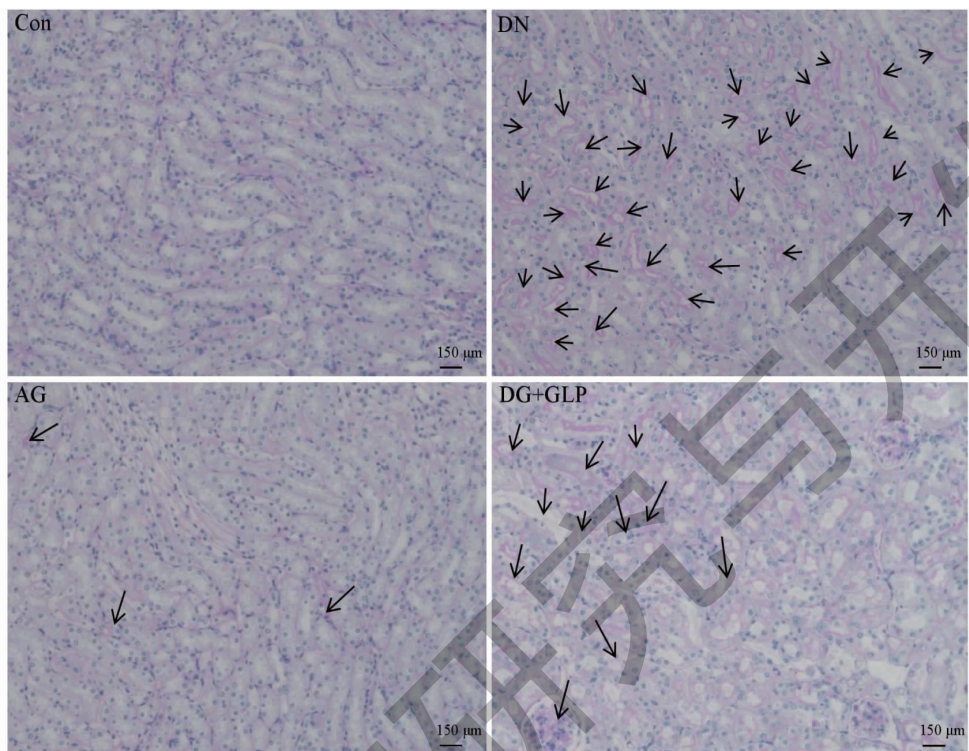


图 1 GLP 对 DN 小鼠肾组织糖原分布的影响(糖原染色, 200 ×)

Fig. 1 Effect of GLP on glycogen distribution in renal tissue of DN mice (PAS staining, 200 ×)

注: 箭头: 糖原染色后使得胞浆呈现红色或深红色环圈。Note: Arrow: After glycogen staining, the cytoplasm appears as a red or dark red ring.

2.5 GLP 对 DN 小鼠肾脏病理损伤形态的影响

与对照组相比, DN 组小鼠的肾皮质显示出肾小球系膜基质的明显增厚, 以及空泡变性的出现。此外, 部分间质区域呈现明显的炎症细胞浸润, 暗示了 DN 的炎症性质。然而, 与 DN 组相比, 接受各种药物治疗的小鼠肾皮质中的肾小球结构相对完整, 肾小球系膜基质增生程度明显减轻, 间质内炎症细胞浸润也显著减少。这表明这些药物可能对 DN 的病理变化有一定的改善作用, 结果见图 2。

与对照组相比, DN 组小鼠肾皮质纤维阳性染色细胞数量显著增加, 表明小鼠肾皮质中胶原沉积增加, 间质纤维化水平升高。与 DN 组相比, 各药物组小鼠肾皮质纤维阳性染色细胞数量有所减少, 这表明小鼠肾皮质中的胶原沉积减少, 间质纤维化水平下降, 具体结果见图 3。这些发现提示各药物对于 DN 小鼠的肾皮质纤维化有一定的抑制作用, 可能对于 DN 的治疗具有潜在的益处。

2.6 GLP 对 DN 小鼠肾组织中 RAGE、COL-IV 和 iNOS 蛋白表达的影响

与对照组比较, DN 组小鼠肾组织中 RAGE、COL-IV 和 iNOS 蛋白的表达量均显著升高 ($P < 0.01$); 与 DN 组比较, AG 组及 DN + GLP 组小鼠肾组织中 RAGE、COL-IV 和 iNOS 蛋白的表达量均显著降低 ($P < 0.05$), 结果见图 4。

3 讨论与结论

DN 是糖尿病患者中最常见的并发症之一, 其发生主要与长期高血糖导致的肾小球和肾小管损伤有关^[1,2]。在 DN 的发展过程中, 糖尿病引起的代谢异常和炎症反应导致肾脏组织的结构和功能发生改变, 最终导致肾功能衰竭^[1,2]。因此, 寻找有效的治疗手段对于控制 DN 的进展至关重要。GLP 是从灵芝菌体中提取的一种多糖类化合物, 具有多种生物活性, 包括抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用^[5]。近年来的研究表明, GLP 在糖尿病及其并发症的治疗中显

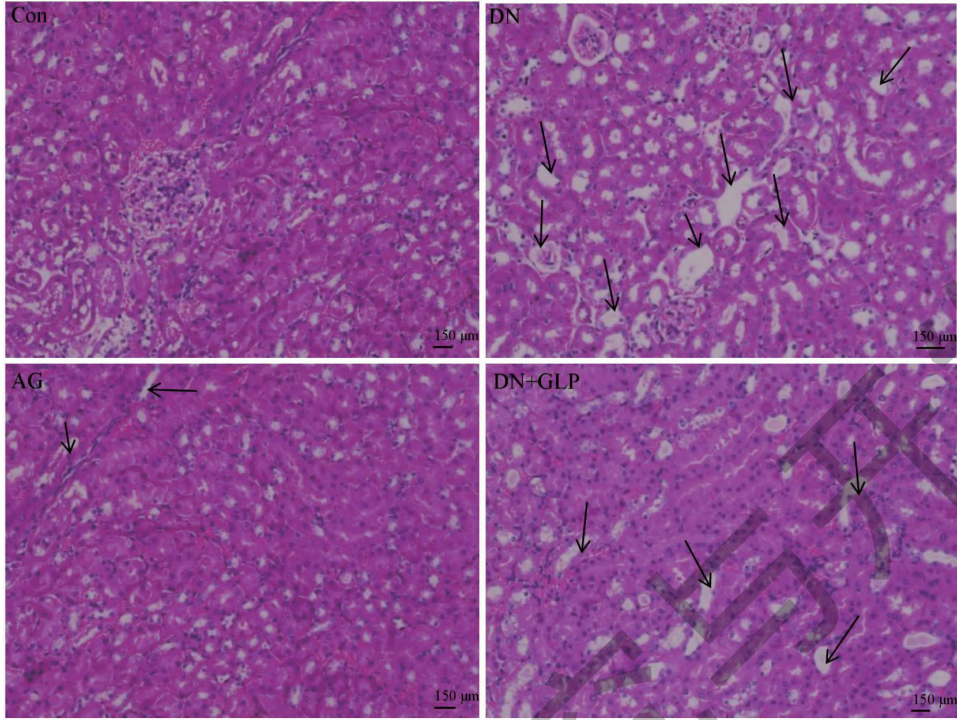


图2 GLP对DN小鼠肾组织病理损伤的影响(伊红染色,200×)

Fig.2 Effect of GLP on renal tissue pathological injury in DN mice (HE staining,200×)

注:箭头:肾小球系膜基质增厚和空泡变性。Note:Arrow:Thickening of the glomerular mesangial matrix and vacuolar degeneration.

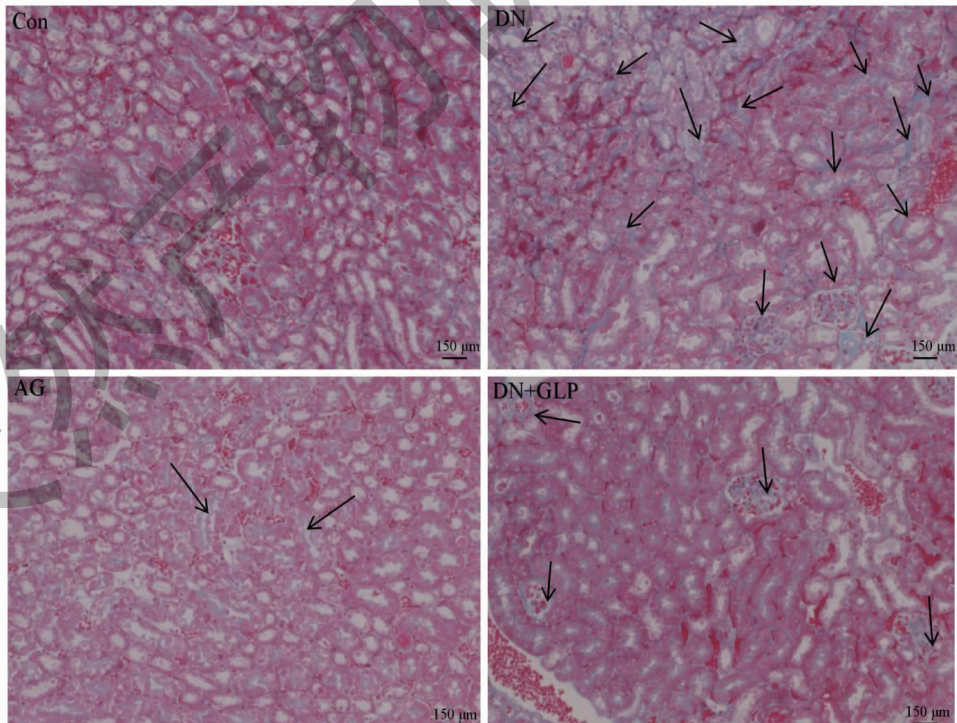


图3 GLP对DN小鼠肾组织纤维化的影响(马松染色,200×)

Fig.3 Effect of GLP on renal tissue fibrosis in DN mice (Masson staining,200×)

注:箭头:肾皮质蓝色纤维化及胶原沉积增加。Note:Arrow:Increased blue fibrosis and collagen deposition in the renal cortex.

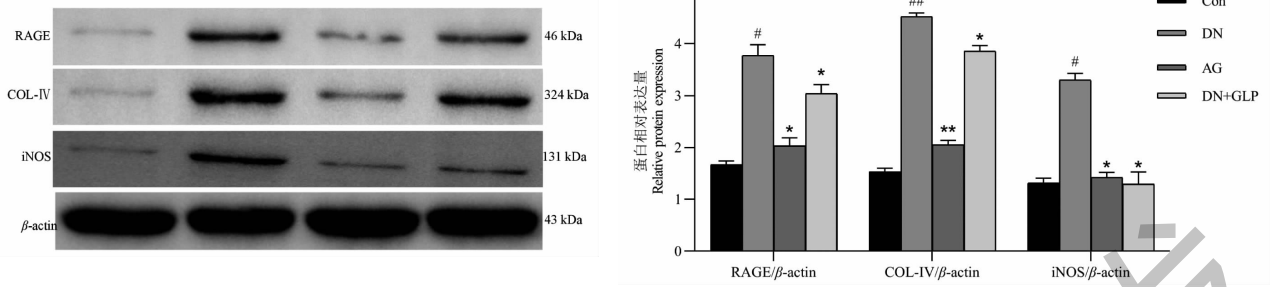


图4 GLP对DN小鼠肾组织中RAGE、COL-IV和iNOS蛋白表达影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Effect of GLP on the expression of RAGE, COL-IV, and iNOS proteins in renal tissues of DN mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

注:与对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与DN组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。Note:Compared with control,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; Compared with DN,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$.

示出一定的潜力,其可能通过调节炎症反应、抑制氧化应激和改善细胞信号通路等机制来发挥作用^[6,7]。在本研究中,特别引入了AG组作为阳性对照,以增强研究的科学性和说服力。AG作为一种已广泛认可的抗糖尿病药物,其对DN的治疗效果和机制已有明确的科学记录。通过将GLP的治疗效果与AG进行直接比较,不仅能够确立GLP的疗效基准,而且还能深入理解其在DN治疗中的作用机制。此外,AG组的设置还允许评估GLP的安全性和耐受性,这对于任何新药物的临床转化至关重要。通过这种比较,旨在探索GLP是否能够成为一种新的、有效的治疗选项,或者与AG联合使用以提高治疗效果。最终,这些发现将为未来的研究方向提供宝贵的信息,并可能指导临床实践中DN治疗策略的优化。

本研究旨在探究GLP对高脂饲料联合STZ诱导的DN小鼠的作用及其潜在机制。通过一系列实验,我们发现,与对照组相比,DN组小鼠的FGB、24 h UTP、BUN和Scr水平显著升高,肾脏病理损伤和纤维化程度显著加剧,同时肾组织中TNF- α 和IL-6水平也增加,而抗炎因子IL-10水平下降。而AG组和DN+GLP组小鼠的肾脏病理损伤及纤维化程度均明显改善,并且相关的定量指标也得到了显著改善。此外,还观察到DN小鼠中RAGE、COL-IV和iNOS蛋白的表达显著增加,这与DN的病理特征相符,提示这些蛋白在DN的发展中扮演着重要角色。经过GLP干预后,发现这些蛋白的表达水平得到了显著下调,这表明GLP可能通过抑制这些关键蛋白的表达来减缓DN的病理进展。RAGE的下调可能减少了炎症和氧化应激^[11],而COL-IV的减少可能

有助于减轻肾小球的硬化^[12]。同时,iNOS表达的降低可能减缓了肾脏炎症和细胞凋亡的过程^[13]。这些结果表明,GLP对RAGE、COL-IV和iNOS蛋白表达的调控可能是其改善DN的关键机制之一。以上这些结果表明GLP在一定程度上对DN小鼠具有改善作用,GLP可能通过抑制RAGE信号通路来实现其保护作用。通过实验结果显示,GLP能够显著改善DN小鼠的肾脏病理损伤和纤维化程度,降低糖尿病相关的生化指标,并且可能通过抑制RAGE信号通路来发挥其保护作用。因此,因此,GLP可能成为一种潜在的DN治疗手段,其机制可能涉及抗炎、抗氧化和抗纤维化等多方面的生物学效应。未来的研究可以进一步探索GLP对这些蛋白表达的调控机制,以及如何通过这些途径实现对DN的有效干预。

当然,该研究也存在一些不足之处。首先,研究可以深入分析GLP在调节炎症反应中的作用机制。炎症反应在DN的发展中起着重要作用,GLP可能通过抑制炎症介质的释放或调节炎症信号通路的活性来减轻肾脏炎症反应,从而保护肾脏组织免受损伤^[20]。其次,研究可以探讨GLP对肾脏纤维化的调节机制。在DN发展过程中,肾脏组织的纤维化是导致肾功能损害和疾病进展的主要因素之一^[21]。GLP可能通过抑制胶原合成、调节基质金属蛋白酶活性或促进胶原降解等方式来减轻肾脏的纤维化过程,从而保护肾脏结构和功能的完整性^[22]。此外,对GLP在治疗DN中的潜在临床应用前景进行探讨也是重要的。尽管目前的研究主要集中在动物模型中,但其结果为GLP作为治疗DN的潜在药物提供了有力支持。进一步的临床研究将有助于确定GLP

在人类 DN 治疗中的安全性和有效性。最后,研究人员可以比较 GLP 与氨基胍在治疗 DN 中的优势和不足之处。与传统药物相比, GLP 可能具有更广泛的生物活性和更少的副作用。然而,需要进一步的研究来验证其长期疗效和安全性,并确定最佳的治疗方案和剂量。

参考文献

- 1 Chen WY, Xu XJ, Liu J, et al. Effect of total flavonoids from hawthorn leaf on antioxidant enzyme activity and related gene expression in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2023, 35: 1314-1321.
- 2 Yang J, Liu Z. Mechanistic pathogenesis of endothelial dysfunction in diabetic nephropathy and retinopathy [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 816400.
- 3 Tang G, Li S, Zhang C, et al. Clinical efficacies, underlying mechanisms and molecular targets of Chinese medicines for diabetic nephropathy treatment and management [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 2749-2767.
- 4 Zeng P, Chen Y, Zhang L, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide used for treating physical frailty in China [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 163: 179-219.
- 5 Liu X, Yang L, Li G, et al. A novel promising neuroprotective agent: *Ganoderma lucidum* polysaccharide [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 229: 168-180.
- 6 Gill BS, Navgeet, Kumar S. *Ganoderma lucidum* targeting lung cancer signaling: a review [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39: 1010428317707437.
- 7 Ahmad MF, Ahmad FA, Zeyaullah M, et al. *Ganoderma lucidum*: novel insight into hepatoprotective potential with mechanisms of action [J]. *Nutrients*, 2023, 15: 1874.
- 8 Ahmad MF. *Ganoderma lucidum*: a rational pharmacological approach to surmount cancer [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260: 113047.
- 9 Peng H, Zhong L, Cheng L, et al. *Ganoderma lucidum*: current advancements of characteristic components and experimental progress in anti-liver fibrosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 13: 1094405.
- 10 Ekiz E, Oz E, Abd El-Aty AM, et al. Exploring the potential medicinal benefits of *Ganoderma lucidum*: from metabolic disorders to coronavirus infections [J]. *Foods*, 2023, 12: 1512.
- 11 Manigrasso MB, Rabbani P, Egaña-Gorroño L, et al. Small-molecule antagonism of the interaction of the RAGE cytoplasmic domain with DIAPH1 reduces diabetic complications in mice [J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13: eabf7084.
- 12 Wang J, Wan X, Huang W, et al. The role of IKK α within macrophages in ischemia-reperfusion injury-induced inflammatory response in mouse kidneys [J]. *J Nanjing Med Univ: Nat Sci (南京医科大学学报: 自科版)*, 2017, 37: 403-408.
- 13 Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic kidney disease: challenges, progress, and possibilities [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017, 12: 2032-2045.
- 14 de Oliveira LA, de Sousa FB, de Sousa FM, et al. Prototype of a sensor for simultaneous monitoring of water level and temperature of rivers in the Amazon using FBG [J]. *Opt Quantum Electron*, 2022, 54: 731.
- 15 Neumann J, Hofmann B, Gergs U. On inotropic effects of UTP in the human heart [J]. *Heliyon*, 2019, 5: e02197.
- 16 Walker HK, Hall WD, Hurst JW, et al. *Clinical methods: the history, physical, and laboratory examinations*; 3rd Ed. [M]. Boston: Butterworths, 1990.
- 17 Bera C, Wong F. Management of hepatorenal syndrome in liver cirrhosis: a recent update [J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2022, 15: 17562848221102679.
- 18 Carnicer R, Duglan D, Zibera K, et al. BH4 increases nNOS activity and preserves left ventricular function in diabetes [J]. *Circ Res*, 2021, 128: 585-601.
- 19 Niu SM, Wang LP, Yang YT, et al. Research on the cardiac remodeling and protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in diabetic rats via the p-Akt/p-GSK3 β /GSK3 β pathway [J]. *Anhui Med Pharm J (安徽医药)*, 2023, 27: 2361-2366.
- 20 Geng X, Zhong D, Su L, et al. Preventive and therapeutic effect of *Ganoderma lucidum* on kidney injuries and diseases [J]. *Adv Pharmacol*, 2020, 87: 257-276.
- 21 Geng X, Zhong D, Su L, et al. Preventive and therapeutic effect of *Ganoderma* (Lingzhi) on renal diseases and clinical applications [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1182: 243-262.
- 22 Khosravifar M, Sajadimajd S, Bahrami G. Anti-diabetic effects of macronutrients via modulation of angiogenesis: a comprehensive review on carbohydrates and proteins [J]. *Curr Mol Med*, 2023, 23: 250-265.