

生脉散对2型糖尿病模型大鼠糖脂代谢和肠道菌群的影响

丘文龙¹, 彭瑜威¹, 杨心怡¹, 谭晓君¹, 张雪杨¹, 赵文昌¹, 吴都督¹, 卢洪梅², 刘小柳³, 阮永队^{2*}, 陈 稚^{1*} (1. 广东医科大学药学院, 广东东莞 523808; 2. 广东医科大学附属东莞第一医院, 广东东莞 523710; 3. 中国深圳市深圳罗湖人民医院医学实验室, 广东深圳 518001)

摘要: 目的 探索生脉散对2型糖尿病(T2DM)模型大鼠糖脂代谢和肠道菌群的影响。方法 采用腹腔注射低剂量链脲佐菌素(STZ)联合高糖高脂饲料喂养的方法,建立T2DM胰岛素抵抗大鼠模型。将大鼠分为正常组、模型组、二甲双胍组、辛伐他汀组、生脉散低、中、高剂量组,连续给药6周后,检测其空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)、糖化血红蛋白(HbA1c)水平,以及总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的水平;并采用16srDNA高通量测序检测大鼠肠道菌群组成和结构,采用高效液相色谱法检测大鼠粪便中短链脂肪酸(SCFAs)含量变化情况。结果 生脉散各剂量组均可降低2型糖尿病大鼠FBG、FINS、HbA1c等血糖指标($P<0.01$ 或 0.05),降低血脂指标中TC、TG、LDL-C的水平($P<0.01$),升高HDL-C的水平($P<0.01$)。此外,生脉散的干预,可以恢复模型组的OUTs数目,提高Chao1、Shannon与Simpson指数($P<0.01$),升高厚壁菌门、拟杆菌门和疣微菌门的丰度($P<0.01$),降低放线菌门和变形菌门的丰度($P<0.01$ 或 0.05),并促进SCFAs的分泌。结论 生脉散可改善T2DM模型大鼠糖脂代谢,其机制可能与改善肠道菌群的组成和结构有关。

关键词: 生脉散; 2型糖尿病; 大鼠; 糖脂代谢; 肠道菌群

中图分类号: R 258.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2023) 02-0127-06

Effect of Shengmai San on glucolipid metabolism and intestinal flora in type 2 diabetes model rats

QIU Wen-long¹, PENG Yu-wei¹, YANG Xin-yi¹, TAN Xiao-jun¹, ZHANG Xue-yang¹, ZHAO Wen-chang¹, WU Du-du¹, LU Hong-mei², LIU Xiao-liu³, YUAN Yong-dui^{2*}, CHEN Zhi^{1*} (College of Pharmacy, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; 2. The First Dongguan Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Dongguan 523710, China; 3. Medical Laboratory, Shenzhen Luohu People's Hospital, Shenzhen 518001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of Shengmai San on glucolipid metabolism and intestinal flora in type 2 diabetes model rats. **Methods** An insulin-resistant type 2 diabetic rat model was established with the method of intraperitoneal injection of low-dose streptozotocin (STZ) combined with high-sugar and high-fat feed. The rats were divided into the Control Group, the Model Group, the Metformin Group, the Simvastatin Group, and Shengmai San Low-Dose, Medium-Dose and High-Dose Groups. After 6 weeks of continuous administration, the fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), and glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels as well as total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels were detected. The composition and structure of intestinal flora of rats were detected with 16s rDNA high-throughput sequencing, and the content of short-chain fatty acids (SCFAs) in feces of rats was detected by high performance liquid chromatography. **Results** In all Shengmai San groups, the FBG, FINS, HbA1c and other blood glucose indexes of type 2 diabetic rats were all decreased ($P<0.01$ or 0.05), the TC, TG and LDL-C levels among blood lipid indexes were all reduced ($P<0.01$), and the HDL-C level was increased ($P<0.01$).

收稿日期: 2022-11-10

基金项目: 广东省自然科学基金(2021B1515140020, 2019A1515110017), 广东省中医药厅科技基金(20212100), 东莞科技特派员项目(20201800500062), 广东医科大学科技基金(GDMUZ2020006), 广东省医学科研基金(B2021056), 东莞市社会发展科技项目(20211800905542), 广东医科大学学科建设项目(4SG21229GDGFY01, 4SG21006)

作者简介: 丘文龙(2000-), 男, 在读硕士研究生, E-mail: 18719358022@163.com

彭瑜威(1999-), 男, 在读硕士研究生, E-mail: 1060753900@qq.com, 为共同第一作者

通信作者: 陈 稚(1979-), 女, 博士, 副教授, E-mail: cz122@126.com

阮永队(1966-), 男, 硕士, 主任中医师, E-mail: ruanyongdui@163.com, 为共同通信作者

In addition, the intervention of Shengmai San could restore the number of OUTs in the Model group, increase the Chao1, Shannon and Simpson indexes ($P<0.01$), increase the abundance of firmicutes, bacteroidetes and warthomicrophyla ($P<0.01$), reduce the abundance of actinobacteria and proteobacteria ($P<0.01$ or 0.05), and promote the secretion of SCFAs. Conclusion Shengmai San can improve glucolipid metabolism in type 2 diabetes rats, and the mechanism may be related to improvement of composition and structure of intestinal flora.

Key words: Shengmai San; type 2 diabetes; rats; glucolipid metabolism; intestinal flora

2型糖尿病(T2DM)是危害人类健康的重大疾病,其病死率在肿瘤、心血管之后居第三位,是目前备受全球关注的公共卫生问题。在我国T2DM的患病率高达11.6%,T2DM的防治已成为研究热点^[1-2]。目前T2DM的发病机制较为复杂,但普遍认为胰岛素抵抗是T2DM的主要发病机制。而肠道菌群与糖尿病的发生、发展密切相关,肠道菌群在胰岛素抵抗的发生、发展过程中发挥了至关重要的作用^[3-6]。因此,靶向调控肠道菌群及其代谢产物,调节肠道菌群的稳态,被认为是治疗T2DM的有效手段。

另外,在中医理论中,糖尿病属于“消渴病”范畴,是以气阴虚弱为本,燥热炽盛为标的一种慢性发展性疾病。不少研究表明,生脉散能有效改善胰岛素抵抗,明显改善T2DM患者的临床症状和体征^[7-9]。目前生脉散改善胰岛素抵抗的作用机制并未明了,本研究将从肠道微生态的角度探讨生脉散调节糖脂代谢治疗T2DM的可能作用机制,旨在为其临床应用提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选择SD大鼠70只,雄性,SPF级,身体质量(100.0 ± 10.0)g,由广东医科大学动物实验中心提供,许可证号码SCXK(粤)2013-0008。所有动物均在无病原体的环境中饲养并随意喂食。照顾和使用动物的程序得到广东医科大学动物中心伦理委员会的批准,并遵守了有关动物道德使用的所有适用的机构和政府法规。

1.1.2 药物与试剂 受试药物:生脉散,药物组成按照普通高等教育中医药类规划教材《方剂学》第五版所载:人参、麦冬、五味子按3:3:2比例组成,本实验中取人参9g、麦冬9g、五味子6g,以上药物麦冬和五味子以10倍量水煎煮1.5h后,人参10倍水另煎1.5h后滤出药液和其余药物药液混合、过滤,浓缩至0.5g/mL。用药剂量依据2015年版《中华人民共和国药典》,根据人和动物体表面积折算的等效剂量比

率表计算,用药总量为200mg/kg,将该剂量设为中剂量,低、中、高剂量分别为50.0、200.0、400.0mg/kg。对照药物:(1)盐酸二甲双胍,250mg/片,河北天成药业有限公司,国药准字H20031134,按照临床常用剂量换算后给动物灌服,剂量为4.0mg/kg;(2)辛伐他汀,20mg/片,浙江京新药业股份有限公司,国药准字H20000009,按照临床常用剂量换算后给动物灌服,剂量为0.32mg/kg。采用葡萄糖氧化酶测定试剂盒、胰岛素放免试剂盒、大鼠胰岛素试剂盒、DNA提取试剂盒(美国Cayman试剂公司)、链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司)。

1.1.3 主要仪器 AUW120D电子分析天平,Shimadzu公司,日本;DYCP-24DN电泳仪,北京六一仪器厂,中国;TQ8040气相色谱-质谱仪,日本岛津公司;MiSeq PE300高通量测序平台,美国Illumina公司。ABI 9700逆转录PCR仪,ABI公司,美国;PikoReal荧光定量PCR仪,Thermo Scientific公司,美国;iMark酶标仪:美国Bio-Rad公司。

1.2 造模与分组

大鼠饲养于广东医科大学动物实验中心,室内温度(25 ± 2)℃,湿度50%~70%,采用12h:12h昼夜间断照明,每天给予换水1次,定量添加饲料1次,并及时更换垫料,动物自由饮水进食,维持饲料由广东医科大学动物实验中心提供,进行适应性喂养1周后,按随机区组法分为正常组10只,造模组60只。造模组用高糖高脂饲料(猪油:蔗糖:奶粉:鸡蛋:常规饲料=10:20:4:3:63)持续喂养8周并结合腹腔注射30mg/kg链脲佐菌素诱导大鼠制备成糖尿病模型,正常组动物腹腔注射等剂量的生理盐水作为对照。

1.3 干预方法

选取造模成功的实验性糖尿病大鼠随机分组,共分为正常组、模型组、二甲双胍组(4.0mg/kg)、辛伐他汀组(0.32mg/kg)、生脉散低剂量组(50.0mg/kg, L-SMS)、生脉散中剂量组(200.0mg/kg, M-SMS)和生脉散高剂量组(400.0mg/kg, H-SMS),每组10只。给药组每日上午定时灌胃给药,模型组和正常组用等

剂量(1 mL/100 g)的生理盐水灌胃,连续6周,期间配合普通饲料喂养。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 血清FBG、FINS、HbA1c的检测 所有动物在取标本前均禁食并自由饮水,禁食12 h后,采用剪尾法从尾静脉末梢取血0.2 mL收集于干燥试管中,3 000 r/min离心15 min后,取血清用于检测。检测药物干预后的空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)及糖化血红蛋白(HbA1c)的水平,其中FBG使用葡萄糖氧化酶试剂盒检测,FINS采用胰岛素放免试剂盒检测,血清中HbA1c使用相关试剂盒进行检测。

1.4.2 血脂水平的检测 测量完小鼠空腹血糖后,从小鼠眼球部取血,取血后采用颈椎脱臼方法处死小鼠。全血室温静置3 h,以3 000 r/min离心15 min,缓慢轻柔吸取上层血清样品,利用试剂盒及酶标仪分析血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的水平。

1.4.3 DNA提取和测序 采用DNA提取试剂盒提取各组小鼠结肠及盲肠内容物中的微生物总DNA。对样品进行PCR扩增、产物纯化、文库制备与库检及Miseq上机测序。利用overlap将双端数据进行拼接,并进行质控、嵌合体过滤,获得高质量的有效数据。由于序列数量庞大,本试验对最终获得的有效数据进行97%的相似度聚类,为降低假阳性率,会过滤 singleton 序列,获得最终的 OTU 丰度及代表序列,进一步进行多样性分析、主坐标分析分析(principal coordinates analysis, PCoA)及微生物菌属组成差异分析等。

1.4.4 短链脂肪酸含量的测定 从收集的粪便中取0.1 g置于2 mL离心管中,加500 μ L的饱和氯化钠溶液,在冰浴条件下用打碎机打碎均匀,再加20 μ L 10% H₂SO₄溶液,混合器振荡混匀,到通风橱中加500 μ L无水乙醚,混合器振荡混匀,14 000 r/min离心15 min,取上清液置于装有0.25 g无水硫酸钠的2 mL离心管中,再以同样的条件离心,取上清液置于气相瓶

中待测。

1.5 统计学处理

应用SPSS 26.0软件进行统计学处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,采用单因素方差分析及LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生脉散对大鼠血糖的影响

与正常组比较,模型组大鼠的FBG、FINS、HbA1c水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,生脉散不同剂量组的FBG、FINS、HbA1c水平均降低($P<0.01$ 或0.05),且其降糖作用随剂量增加而增加,尤其是生脉散高剂量组,其效果与二甲双胍组接近,提示生脉散可降低胰岛素抵抗大鼠的血糖水平。见表1。

表1 生脉散对大鼠血糖的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	FBG/ (mmol/L)	FINS/ (U/L)	HbA1c/ %
正常组	4.97 $\pm$ 0.28	23.15 $\pm$ 3.22	4.18 $\pm$ 0.39
模型组	16.38 $\pm$ 1.56 ^a	49.51 $\pm$ 6.17 ^a	5.88 $\pm$ 0.72 ^a
二甲双胍组	9.43 $\pm$ 0.60 ^b	25.36 $\pm$ 3.62 ^b	4.35 $\pm$ 0.45 ^b
生脉散低剂量组	13.38 $\pm$ 1.14 ^{bd}	40.88 $\pm$ 4.91 ^{bd}	5.82 $\pm$ 0.11 ^d
生脉散中剂量组	12.52 $\pm$ 0.46 ^{bd}	36.28 $\pm$ 3.95 ^{bd}	5.31 $\pm$ 0.13 ^{cd}
生脉散高剂量组	10.98 $\pm$ 0.21 ^{bdf}	28.88 $\pm$ 2.84 ^{bf}	5.06 $\pm$ 0.10 ^{bde}

与正常组比较:^a $P<0.01$;与模型组比较:^b $P<0.01$,^c $P<0.05$;与二甲双胍组比较:^d $P<0.01$;与生脉散低剂量组比较:^e $P<0.01$,^f $P<0.05$

2.2 生脉散对大鼠血脂水平的影响

与正常组相比,模型组大鼠的模型组TC、TG、LDL-C水平升高($P<0.01$),HDL-C水平降低($P<0.01$);与模型组比较,辛伐他汀组和生脉散不同剂量组的TC、TG、LDL-C水平降低,HDL-C水平升高($P<0.01$ 或0.05);尤其是生脉散高剂量组,其降脂效果与辛伐他汀组基本一致,提示生脉散能够改善高脂饮食诱导的小鼠血脂紊乱的现象。见表2。

2.3 生脉散对大鼠肠道菌群多样性及组成的影响

正常组、模型组、生脉散低剂量组和生脉散高剂

表2 生脉散对大鼠血脂的影响

($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(nmol/L)	LDL-C/(nmol/L)
正常组	3.76 $\pm$ 0.24	0.77 $\pm$ 0.06	2.97 $\pm$ 0.46	1.20 $\pm$ 0.16
模型组	4.75 $\pm$ 0.58 ^a	1.13 $\pm$ 0.13 ^a	1.54 $\pm$ 0.22 ^a	2.36 $\pm$ 0.37 ^a
辛伐他汀组	3.91 $\pm$ 0.27 ^b	0.85 $\pm$ 0.10 ^b	2.62 $\pm$ 0.35 ^b	1.31 $\pm$ 0.21 ^b
生脉散低剂量组	4.33 $\pm$ 0.13 ^{ce}	1.04 $\pm$ 0.04 ^d	1.93 $\pm$ 0.12 ^{cd}	2.63 $\pm$ 0.11 ^{cd}
生脉散中剂量组	4.12 $\pm$ 0.15 ^b	0.96 $\pm$ 0.05 ^{bc}	2.08 $\pm$ 0.06 ^{bc}	2.35 $\pm$ 0.08 ^{df}
生脉散高剂量组	4.01 $\pm$ 0.10 ^b	0.89 $\pm$ 0.03 ^b	2.69 $\pm$ 0.11 ^{bg}	1.47 $\pm$ 0.04 ^{bg}

与正常组比较:^a $P<0.01$;与模型组比较:^b $P<0.01$,^c $P<0.05$;与辛伐他汀组比较:^d $P<0.01$,^e $P<0.05$;与生脉散低剂量组比较:^f $P<0.01$,^g $P<0.05$

量组分别观测到 1 034、755、894 和 971 个特有 OTU 数。与正常组比较,模型组的 OTUs 数下降;而在大鼠接受不同剂量的生脉散后,OUTs 数目较模型组有一定程度提高。这表明生脉散有利于肠道菌群的恢复,丰富肠道菌群数。见图 1。

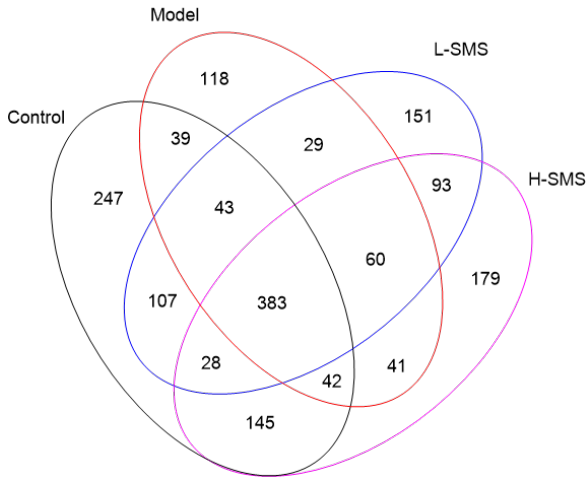


图 1 大鼠肠道菌群 OTUs 分布的 Venn 图

Alpha 多样性主要与种类数目和多样性相关,即丰富度和均匀性。菌群丰富度主要包括 Chao1 指数,而菌群均匀性主要包括 Shannon 和 Simpson 指数。与正常组相比,模型组的 Shannon 以及 Chao1 指数均降低 ($P<0.01$),而生脉散组与模型组相比,能有效升高 Chao1、Shannon 与 Simpson 指数 ($P<0.01$)。上述结果表明,生脉散可以有效防止糖尿病大鼠的肠道微生物群丰富度及多样性的降低。见表 3。

表 3 生脉散对大鼠肠道菌群 Alpha 多样性的影响

($\bar{x}\pm s, n=10$)

组 别	Chao1	Shannon	Simpson
正常组	397.44 $\pm$ 21.67	7.54 $\pm$ 0.68	0.98 $\pm$ 0.02
模型组	305.80 $\pm$ 14.41 ^a	6.15 $\pm$ 0.37 ^a	0.90 $\pm$ 0.05 ^a
生脉散低剂量组	357.25 $\pm$ 17.92 ^b	7.15 $\pm$ 0.39 ^b	0.96 $\pm$ 0.03 ^b
生脉散高剂量组	369.32 $\pm$ 18.23 ^b	7.26 $\pm$ 0.48 ^b	0.97 $\pm$ 0.02 ^b

与正常组比较: ^a $P<0.01$;与模型组比较: ^b $P<0.01$

为比较微生物群落之间的差异,计算了 β 多样性并进行主成分分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA),其结果如图 2 所示。从图 2 可见,横坐标和纵坐标成分的贡献率分别是 45.39% 和 13.28%,提示分

组关系较好。而各组 (正常组、模型组、生脉散低剂量组和生脉散高剂量组) 样本点区别明显,其中生脉散低剂量组和生脉散高剂量组与正常组样本点距离小于模型组和正常组间的距离,说明生脉散干预后的菌群结构有向正常组的菌群结构模式调节的趋势。

为进一步评估肠道微生物群的组成变化,进行了门水平的分类学分析。在门水平上,与正常组比较,模型组肠道菌群中放线菌门和变形菌门丰度升高,厚壁菌门和拟杆菌门丰度降低 ($P<0.01$)。而与模型组相比,生脉散组使厚壁菌门、拟杆菌门和疣微菌门丰度升高,放线菌门和变形菌门丰度降低 ($P<0.01$ 或 0.05)。这表明生脉散可在一定程度上改善糖尿病大鼠体内肠道菌群紊乱的状态,诱导其肠道微生物组成恢复成正常大鼠状态。见表 4。

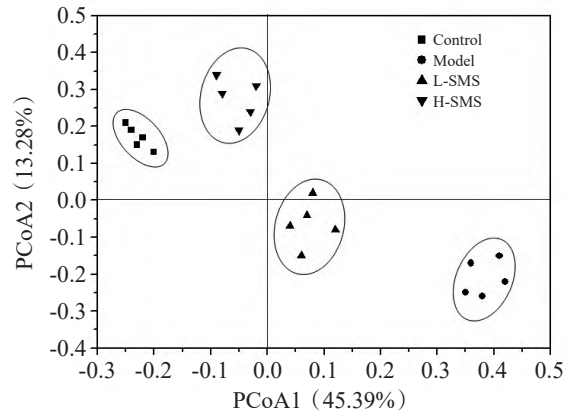


图 2 大鼠肠道菌群 β 多样性的 PCoA 图

2.4 生脉散对大鼠粪便中短链脂肪酸含量的影响

采用高效液相色谱法,考察了生脉散对大鼠粪便中 SCFAs 含量的影响。结果发现,经灌胃高剂量生脉散后,大鼠粪便中的水分含量高于正常组,表明生脉散可能具有一定的润肠通便的功能;另外,大鼠粪便中 SCFAs 的含量较正常组和模型组均有增加,表明生脉散能有效促进大鼠肠道内产 SCFAs 细菌的增殖,增加 SCFAs 的产生量。见表 5。

3 讨论

随着人们生活方式尤其是饮食习惯的变化,使得诸如冠心病和糖尿病之类的慢性代谢性疾病发病率

表 4 生脉散对大鼠肠道菌群基于门水平的物种构成影响

($\bar{x}\pm s, n=10, \%$)

组 别	厚壁菌门	拟杆菌门	放线菌门	变形菌门	疣微菌门	其他
正常组	69.63 $\pm$ 6.51	22.38 $\pm$ 3.94	3.57 $\pm$ 0.47	3.70 $\pm$ 0.42	0.48 $\pm$ 0.07	0.24 $\pm$ 0.03
模型组	56.01 $\pm$ 4.92 ^a	12.15 $\pm$ 2.71 ^a	13.66 $\pm$ 2.84 ^a	16.80 $\pm$ 2.63 ^a	0.46 $\pm$ 0.03	0.92 $\pm$ 0.02 ^a
生脉散低剂量组	63.14 $\pm$ 5.34 ^c	18.40 $\pm$ 3.57 ^b	6.98 $\pm$ 1.68 ^b	9.31 $\pm$ 2.36 ^b	1.84 $\pm$ 0.17 ^b	0.33 $\pm$ 0.05 ^b
生脉散高剂量组	67.26 $\pm$ 6.22 ^b	19.85 $\pm$ 3.66 ^b	4.32 $\pm$ 1.27 ^b	6.17 $\pm$ 1.95 ^b	2.06 $\pm$ 0.26 ^b	0.34 $\pm$ 0.05 ^b

与正常组比较: ^a $P<0.01$;与模型组比较: ^b $P<0.01$, ^c $P<0.05$

表5 生脉散对大鼠粪便中SCFAs含量的影响

组别	水分含量/%	短链脂肪酸含量/($\mu\text{g/g}$)					
		总量	乙酸	丙酸	正丁酸	异丁酸	正戊酸
正常组	55.36	90.41	49.75	20.68	1.24	17.82	0.92
模型组	43.58	62.04	33.52	14.81	0.98	12.55	0.80
生脉散组	61.07	114.48	20.92	33.60	2.75	30.54	1.67

生脉散剂量为 400.0 mg/kg

增加^[10]。糖尿病是由于体内胰岛素分泌缺陷而引发的以高血糖为特征的代谢性疾病,其中 90% 以上患者为 T2DM。而胰岛素抵抗被认为是造成 T2DM 的主要病理基础和发病机制。近年来,中药复方因具有多成分、多靶点、毒性低、价格低、整体调节糖代谢、改善胰岛素抵抗的作用而成为了研究热点^[11-13]。且临床研究已证明,生脉散对糖尿病及其并发症有良好的防治作用^[14]。本研究以传统的中药为切入口,使用生脉散对 T2DM 模型大鼠进行治疗,从肠道微生态的角度探讨生脉散调节糖脂代谢治疗 T2DM 的可能作用机制。

本实验结果显示,生脉散可以降低 T2DM 模型大鼠的血糖以及 HbA1c 水平,也可以调节血脂水平。同时通过 16SrDNA 高通量测序法研究肠道微生物,大鼠肠道菌群的 OTUs 分布结果显示,与正常组比较,模型组肠道菌群 Chao1、Shannon、Simpson 指数均降低,表明模型组的肠道菌群丰度、多样性均有降低;而生脉散低剂量与高剂量组中,Chao1、Shannon、Simpson 指数明显回调,提示生脉散对肠道菌群结构的多样性有显著改善且效果良好。此外, β 多样性的 PCoA 图显示,生脉散低剂量和高剂量组之间相互聚拢,表明生脉散低、高剂量这两组在相应的维度上菌群群落组成相似;而且生脉散低、高剂量两组有向正常组靠近的趋势,提示大鼠肠道菌群的结构组成,在生脉散的干预下可以在一定程度上往正常大鼠菌群的结构组成回调。

此外,据文献报道在 T2DM 患者肠道内,厚壁菌门与拟杆菌门的比值与血糖水平呈正相关,而且这两门菌群也是影响能量代谢平衡的主要群落^[15-18]。因此我们在门水平上评估了肠道微生物的群落变化,结果显示,与正常组比较,模型组的肠道菌群中放线菌门和变形菌门丰度明显增加,拟杆菌门降低。作为肠道微生态失调的潜在生物标志物,变形菌门相对丰度增加与体内代谢紊乱有关联,这一结果证实了模型组大鼠体内出现了肠道菌群失调^[19]。经生脉散干预后,厚壁菌门、拟杆菌门和疣微菌门丰度升高,变形菌门丰度降低,说明生脉散对 T2DM 大鼠肠道菌群有一定改善作用。最后,本实验还考察了大鼠粪便中 SCFAs 含量。SCFAs 主要包括乙酸、丙酸和丁酸,丙酸是拟杆菌门

发酵的主要产物,可抑制胆固醇合成,丁酸是厚壁菌门发酵的主产物,可维持肠道内环境稳定^[20]。本研究结果显示,模型组大鼠的 SCFAs 含量较正常组少,而生脉散组 SCFAs 含量显著回调且高于正常组,表明生脉散可使产 SCFAs 的菌群丰度增加。

综上,生脉散能显著调节 T2DM 模型大鼠的血糖、HbA1c 和血脂水平,且能增加肠道厚壁菌门、拟杆菌门和疣微菌门的丰度,降低变形菌门的丰度,生脉散改善糖脂代谢的机制可能与调节体内肠道菌群的结构密切相关。

参考文献:

- [1] 潘学伟. 中西药结合治疗 2 型糖尿病的研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2022, 41(6): 158-160.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版) [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(4): 311-398.
- [3] 牟荣菲, 王绵, 刘瑞红, 等. 肠道菌群与 2 型糖尿病相关性的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2022, 30(8): 636-640.
- [4] KIM C H. Microbiota or short-chain fatty acids: Which regulates diabetes? [J]. Cell & Mol Immunol, 2017, 15(2): 88-91.
- [5] 陈浩嘉, 陈有红, 吴寿岭. 膳食纤维和肠道菌群与肥胖关系的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(5): 839-844.
- [6] YIN C M, GIULIANA D N, FAN X Z, et al. The impact of mushroom polysaccharides on gut microbiota and its beneficial effects to host: A review [J]. Carbohydr Polym, 2020, 250: 116942.
- [7] 吴小慧, 刘菲, 段忠心. 生脉散对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞 NF- κ B/I κ B 及 VEGF 表达的影响[J]. 山东医药, 2018, 58(48): 45-48.
- [8] 王景学, 宋建新. 生脉散治疗胰岛素抵抗的临床观察[J]. 光明中医, 2007(1): 60-61.
- [9] 卢敏. 加味生脉散治疗 2 型糖尿病胰岛素抵抗的临床观察[J]. 北方药学, 2015, 12(2): 25-25.
- [10] 周颖, 陈民. 从肠道菌群角度探讨益生元食品干预血脂异常研究概况[J]. 云南中医中药杂志, 2021, 42(4): 88-90.
- [11] 张雅心, 江伟豪, 周风华, 等. 从心论治方对 ApoE-/- 小鼠血脂和肠道菌群的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(8): 892-899.
- [12] 姜广坤, 牛雯颖, 张文妮, 等. 连梅汤对糖尿病模型小鼠血糖和肠道菌群的影响[J/OL]. 世界科学技术- 中医药现代化,

(下转第 158 页)

参考文献:

- [1] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会. 突发性聋诊断和治疗指南(2015) [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 50(6): 443-447.
- [2] GROSS J, OLZE H, MAZUREK B. Molecular networks of hypoxia and neuronal apoptosis in the cochlea [J]. Hno, 2018, 66(9): 677-685.
- [3] MOORE B C. Dead regions in the cochlea: Conceptual foundations, diagnosis, and clinical applications [J]. Ear Hear, 2004, 25(2): 98-116.
- [4] MOORE B C, GLASBERG B R, STONE M A. New version of the TEN test with calibrations in dB HL [J]. Ear Hear, 2004, 25(5): 478-487.
- [5] XU S, YANG N. Research progress on the mechanism of cochlear hair cell regeneration [J]. Front Cell Neurosci, 2021, 15(1): 1-8.
- [6] 付佳, 刘彤, 汪垠, 等. 耳蜗死区在老年性聋患者中的初步临床分析 [J]. 中华耳科学杂志, 2016, 14(5): 615-619.
- [7] 张帅, 张官萍, 刘天润, 等. 感音神经性听力损失患者耳蜗死区检测结果分析 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2014, 22(4): 360-363.
- [8] 孔维仁, 周梁. 耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 412-417.
- [9] 姜雪莲, 张静月, 卫旭东. 耳蜗死区检测方法[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2021, 45(2): 72-75.
- [10] 韩一鸣, 王永华. 耳蜗死区对感音神经性听力损失患者言语识别能力的影响 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2017, 25(6): 567-570.
- [11] 罗彬, 管锐瑞, 孙敬武, 等. 对称性感音神经性聋患者耳蜗死区分布特点 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2019, 27(5): 511-514.
- [12] CICEK M T, KOCA C F, AKARCAY M. The effects of acute hypoxia on audition: An experimental study [J]. North Clin Istanbul, 2021, 8(1): 1-7.
- [13] CHEN C K, SHEN S C, LEE L A, et al. Idiopathic sudden sensorineural hearing loss in patients with obstructive sleep apnea [J]. Nat Sci Sleep, 2021, 13(1): 1877-1885.
- [14] ATKINSON P J, HUARCAYA NAJARRO E, SAYYID Z N, et al. Sensory hair cell development and regeneration: Similarities and differences [J]. Development, 2015, 142(9): 1561-1571.
- [15] VOGL C, COOPER B H, NEEF J, et al. Unconventional molecular regulation of synaptic vesicle replenishment in cochlear inner hair cells [J]. J Cell Sci, 2015, 128(4): 638-644.
- [16] PARK D J, HA S, CHOI J S, et al. Induced short-term hearing loss due to stimulation of age-related factors by intermittent hypoxia, high-fat diet, and galactose injection [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 68-70.
- [17] FU Q, WANG T, LIANG Y, et al. Auditory deficits in patients with mild and moderate obstructive sleep apnea syndrome: A speech syllable evoked auditory brainstem response study [J]. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2019, 12(1): 58-65.

~~~~~  
(上接第131页)

- 2022, 24(5): 1953-1961.
- [13] 陈奕瀚, 张雅心, 江伟豪, 等. 麦冬皂苷D对高脂饲养ApoE<sup>-/-</sup>小鼠血脂及肠道菌群的影响 [J]. 中草药, 2020, 51(13): 3501-3508.
- [14] 张采琼, 黄美艳, 蔡秀江. 生脉散临床应用研究进展 [J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(3): 409-411.
- [15] 秦文, 王丽媛, 杨倬, 等. 黄酒对高脂血症模型大鼠血脂及肠道菌群的影响 [J]. 中国酿造, 2019, 38(4): 65-69.
- [16] LARSEN N, NADJA L, FINN K V, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults [J]. PLoS One, 2010, 70(5): 2-8.
- [17] REMELY M, AUMUELLER E, MEROLD C, et al. Effects of shortchain fatty acid producing bacteria on epigenetic regulation of FFAR3 in type 2 diabetes and obesity [J]. Gene, 2014, 16(1): 85-92.
- [18] 郭晔, 邢志凯, 李蒙, 等. 植物益生元对肠道菌群的调节及对机体糖代谢吸收的影响 [J]. 农产品加工, 2020(6): 52-57.
- [19] 邱立, 谷贵章, 王欣宇, 等. 泔苔多酚对肥胖小鼠血脂代谢及肠道菌群的调节作用 [J]. 核农学报, 2022, 36(8): 1638-1647.
- [20] 刘松珍, 张雁, 张名位, 等. 肠道短链脂肪酸产生机制及生理功能的研究进展 [J]. 广东农业科学, 2013, 40(11): 99-103.