

## 注射用益气复脉(冻干)对阿霉素所致心肌损伤大鼠药效及肠道菌群的影响

魏 栋<sup>1</sup>, 杜 韩<sup>1</sup>, 原 景<sup>1</sup>, 万梅绪<sup>2, 3</sup>, 李德坤<sup>2, 3</sup>, 鞠爱春<sup>2, 3\*</sup>

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

3. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

**摘要:** 目的 探讨注射用益气复脉(冻干)(YQFM)对阿霉素导致的心肌损伤大鼠的药效作用及对肠道菌群的影响。方法 将24只阿霉素导致心肌损伤模型成功的SD大鼠随机分为3组: 模型组和YQFM低、高剂量(464.3、928.6 mg·kg<sup>-1</sup>)组, 另取8只健康SD大鼠为对照组。每天尾iv给药1次, 连续14 d, 对照组和模型组尾iv 0.9%氯化钠注射液。给药过程中观察大鼠状态并称体质量。给药结束后, 酶联免疫吸附(ELISA)法检测大鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)水平; 取出心脏进行HE染色观察病理改变; 取出盲肠位置粪便, 进行高通量16S rRNA测序分析。结果 对照组大鼠一般状态正常, 模型组出现毛色变差、厌食、腹胀、腹泻、口鼻出血、眼球出血的动物数明显多于给药组; 与对照组比较, 模型组大鼠体质量显著降低( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, YQFM低、高剂量组的大鼠体质量显著上升( $P < 0.01, 0.001$ )。与对照组相比, 模型组MDA、LDH、CK水平均显著升高, SOD活性显著性下降( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, YQFM低、高剂量组MDA、LDH、CK水平显著下降, SOD活性显著升高( $P < 0.001$ )。HE结果显示, 对照组心肌细胞排列整齐, 模型组有心肌细胞溶解和出血现象, 给予YQFM后心肌细胞溶解和出血现象减轻。Alpha多样性分析结果显示, 与对照组相比, 模型组肠道菌群的多样性和丰度均显著下降( $P < 0.05, 0.01$ ); 与模型组比较, YQFM组肠道菌群的多样性和丰度显著上升( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )。距离矩阵与PCoA分析结果显示, 给药组和对照组之间的差异比模型组和对照组的差异小。肠道丰度的结果显示, 与对照组相比, 模型组在门和属的水平上的菌群数量均显著减少( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, YQFM低剂量组在门的水平上和低、高剂量组在属的水平上菌群数量均显著增加( $P < 0.01, 0.001$ )。在菌群物种的组成差异度分析中, 与模型组比较, 给予YQFM后有助于有益菌的生长和抑制致病菌生长( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ); 在肠道菌群均匀度的分析中, 与对照组比, 模型组的肠道菌群均匀度降低, 给予YQFM后, 肠道菌群的均匀度恢复。结论 YQFM对阿霉素导致的大鼠心肌损伤发挥改善作用, 并且可改善心肌损伤造成的肠道菌群多样性及丰度下降, 抑制致病菌的生长, 促进有益菌的生长。

关键词: 注射用益气复脉(冻干); 阿霉素; 心肌损伤; 肠道菌群; 16S rRNA基因测序

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)11-2231-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.009

## Pharmacodynamic effect of Yiqi Fumai Lyophilized Injection on adriamycin induced myocardial injury rats and it's effect on intestinal flora

WEI Dong<sup>1</sup>, DU Han<sup>1</sup>, YUAN Jing<sup>1</sup>, WAN Meixu<sup>2,3</sup>, LI Dekun<sup>2,3</sup>, JU Aichun<sup>2,3</sup>

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

3. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300410, China

**Abstract: Objective** To investigate the pharmacodynamic and intestinal flora effect of Yiqi Fumai Lyophilized Injection (YQFM) on adriamycin induced myocardial injury in rats. **Methods** Totally 24 SD rats with myocardial injury induced by adriamycin were randomly divided into three groups: model group, YQFM low and high-dose group (464.3 and 928.6 mg·kg<sup>-1</sup>). Another eight healthy SD rats were taken as control group. Tail vein iv 0.9% sodium chloride injection was administered in control and model group, and tail vein iv YQFM was used in the administration group continuously for 14 days. During the administration process, the

收稿日期: 2022-08-17

第一作者: 魏 栋,男,在读硕士研究生,研究方向为中药药理。E-mail:1293484031@qq.com

\*通信作者: 鞠爱春,男,正高级工程师,主要从事中药工艺、质量控制及药物警戒研究。E-mail: Juac@tasly.com

rats were observed and weighed. After the administration, the contents of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) in the serum of rats were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The heart was taken out for HE staining to observe the pathological changes. Feces from the cecum were removed and analyzed by high-throughput 16S rRNA sequencing. **Results** The rats in the control group were in normal state, while the number of animals in the model group with hair color deterioration, anorexia, abdominal distension, diarrhea, oral and nasal bleeding, and eyeball bleeding were significantly more than those in the administration group. Compared with control group, the body weight of the model group was significantly decreased ( $P < 0.001$ ). Compared with model group, the body weight of rats in YQFM low and high dose groups was significantly increased ( $P < 0.001$ ). Compared with control group, the contents of MDA, LDH and CK in model group were significantly increased and the activity of SOD was significantly decreased ( $P < 0.001$ ). After administration, the contents of MDA, LDH and CK in YQFM group decreased, while the activity of SOD increased ( $P < 0.001$ ). HE stain results showed that the cardiomyocytes in control group were arranged in order, and cardiomyocytes in model group were dissolved and bleeding, which were alleviated after YQFM administration. The results of alpha diversity analysis showed that compared with control group, the diversity and abundance of intestinal flora in model group decreased ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ), while compared with model group, after YQFM administration, the diversity and abundance of intestinal flora increased and recovered ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ). The results of distance matrix and PCoA analysis showed that the difference between the YQFM administration group and the control group was smaller than that between the model group and the control group ( $P < 0.01$ ). The results of intestinal abundance showed that compared with control group, the number of phylum and genus in model group decreased ( $P < 0.01$ ), and compared with model group, the number of bacteria in the low dose YQFM group at the phylum level and the low and high dose YQFM groups at the genus level were significantly increased ( $P < 0.01, 0.001$ ). In the analysis of the composition difference of the flora species, YQFM was helpful to the growth of beneficial bacteria and inhibit the growth of pathogenic bacteria compared with model group ( $P < 0.01, 0.001$ ). In the analysis of evenness of intestinal flora, compared with control group, the evenness of intestinal flora in model group decreased, and after YQFM administration, the evenness of intestinal flora recovered. **Conclusion** YQFM can improve the myocardial injury caused by doxorubicin in rats, and improve the diversity and abundance of intestinal microbiota caused by myocardial injury, inhibit the growth of pathogenic bacteria, and promote the growth of beneficial bacteria.

**Key words:** Yiqi Fumai Lyophilized Injection; adriamycin; myocardial injury; intestinal flora; 16S rRNA gene sequencing

阿霉素又称多柔比星,属于蒽环类抗肿瘤药物,具有抗癌谱广、临床疗效高等优点,用于治疗多种恶性肿瘤,是临床上最常用的抗肿瘤药物之一<sup>[1]</sup>。但阿霉素对心脏有着严重的心脏毒性,影响其在临床上的应用<sup>[2]</sup>。临床研究<sup>[3-4]</sup>发现,阿霉素所造成的心肌损伤往往是不可逆的,严重可出现心律失常和心力衰竭等问题<sup>[5]</sup>。注射用益气复脉(冻干)(YQFM)来源于经典名方“生脉散”,由红参、麦冬、五味子3味中药组成,是经现代工艺精制而成的中药注射冻干粉针<sup>[6-7]</sup>。现代药理研究表明,YQFM具有抗心衰、抗心肌缺血/缺氧损伤、抗炎、抗氧化、改善能量代谢、抑制心肌细胞凋亡和减少心肌组织胶原沉积、纤维化等药理作用<sup>[8]</sup>。相关研究证明,YQFM对阿霉素造成的心肌损伤具有一定的保护作用<sup>[9]</sup>。

随着科学技术的发展和16sRNA技术的应用,人们越来越关注肠道菌群在生命活动中的重要作用,有研究表明,肠道菌群与很多心血管疾病具有密切联系<sup>[10]</sup>,肠道菌群及其代谢产物与人体的氧化应激反应、脂质代谢和炎症反应都存在着联系,心

肌损伤大鼠的肠道菌群与正常大鼠相比出现了明显的菌群失衡<sup>[11-12]</sup>。因此本实验以肠道菌群为切入点,利用16S rRNA高通量测序的方法,探讨YQFM对阿霉素造成的心肌损伤的药效及大鼠肠道菌群的改善作用。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF级SD大鼠32只,雄性,体质量180~200g,购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)2021-0011,所有实验操作均严格按照天士力实验动物管理及福利伦理委员会标准执行(TSL-IACUC-2022-45)。实验开始前,所有大鼠适应性饲养1周,环境为SPF级,实验期间自由饮水、进食,隔日更换垫料1次。

### 1.2 药物和主要试剂

YQFM(天津天士力之骄药业有限公司,批号20200301,规格:每瓶装0.65g,相当于红参0.5g、五味子0.75g和麦冬1.5g);盐酸阿霉素(上海生工生物工程股份有限公司,批号0161909408);0.9%氯化钠注射液(石家庄四药有限公司,批号

2001153204); 异氟烷(香港友诚生物科技有限公司); 甲醛(天津市大茂化学试剂厂); 伊红染色液(厦门迈威生物科技有限公司, 批号 210420); DNA 抽提试剂盒(美国 Bio-Tek 公司); 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)ELISA 检测试剂盒, 均购于上海酶联生物科技有限公司。

### 1.3 主要仪器

T1000 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂); FSH-2 可调高速匀浆机、ST16R 高速冷冻离心机、902-ULTS -80 °C 低温冰箱(美国 Thermo Fisher 公司); Tecan Infinite M200 多功能酶标仪(日本 Tecan 公司); VEM 型小动物麻醉机(上海赞德医疗器械有限公司); MBR-022UP 往复式恒温振荡器(日本 TAITEC 公司); novaseq5000、novaseq6000 型高通量测序仪(美国 Illumina 公司); ABI GeneAmp® 9700 型 PCR 仪(美国 ABI 公司); ASP300S 全自动脱水机、RM2235 切片机、EG1150 包埋机、HI1220 烘片机、HI1210 展片机(德国 Leica 公司)。

## 2 方法

### 2.1 阿霉素心肌损伤大鼠模型的制备

参考文献报道方法<sup>[13-14]</sup>, 本研究采用的造模方式为阿霉素累计剂量 24 mg·kg<sup>-1</sup>, 每次 ip 4 mg·kg<sup>-1</sup>, 每周 3 次, 连续 2 周。

### 2.2 实验分组及给药

将造模成功的 24 只 SD 大鼠随机分为 3 组: 模型组和 YQFM 低、高剂量(464.3、928.6 mg·kg<sup>-1</sup>, 464.3 mg·kg<sup>-1</sup> 为临床等效剂量)组, 每组 8 只, 另取 8 只 SD 大鼠作为对照组。每天尾 iv 给药 1 次, 连续 14 d, 对照组和模型组尾 iv 0.9% 氯化钠注射液。

### 2.3 大鼠一般状态观察及记录体质量

观察动物的一般状态, 包括动物外观、行为活动、摄食情况、反应力及精神状态, 每周记录 2 次大鼠体质量。

### 2.4 血清生化指标检测

将 SD 大鼠通过小动物麻醉机用异氟烷麻醉,

采用腹主动脉取血法取血, 4 °C、3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清, 分别采用 SOD、MDA、LDH、CK 试剂盒并按照说明书操作流程检测相应指标。

### 2.5 大鼠心脏 HE 染色

将取血后的大鼠解剖, 取出心脏放进 10% 的甲醛溶液固定, 固定 1 周后取出心脏中段进行石蜡切片, 后进行常规 HE 染色, 光学显微镜观察并拍照。

### 2.6 肠道菌群 16S rRNA 测序

解剖后收集盲肠末端粪便, 依据 DNA 抽取试剂盒说明书对收集的大鼠粪便样本进行微生物群落总 DNA 抽提, 使用 F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3' 和 R: 5'-TCGACTACTACHVGGGTWTCTAAT-3' 作为测序引物, 对 16S rRNA 基因测序区域 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。纯化后采用 Illumina 技术平台的 novaseq5000 和 novaseq6000 测序系统进行测序。利用 QIIME 软件对测序序列进行质控及分类学操作分类单元(OTU)聚类, 所得序列与 Greengenes 数据库进行比对分析, 获得 OTU 对应的分类单元及其相对应的丰度。

### 2.7 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件进行处理, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 如果数据同时满足正态性和方差齐性, 多组间比较采用单因素方差分析; 若不满足, 则采用秩和检验。

## 3 结果

### 3.1 一般状态观察

从阿霉素造模第 6 天开始, 所有模型大鼠均出现毛发松乱、毛色发暗、精神状态不佳, 个别大鼠有腹泻现象; 第 8 天开始出现厌食、粪质稀溏、腹部胀大等症状, 大约第 10 天左右开始出现明显的口鼻出血、眼周发炎、眼球出血现象。

各组给药后的大鼠的状态结果见表 1, 模型组出现毛色变差、厌食、腹胀、腹泻、口鼻出血、眼球出血的动物数明显多于给药组。模型组大鼠有 6 只出现腹泻现象, YQFM 低剂量组 3 只大鼠出现腹泻, 在 1 周后大多数大鼠饮食恢复, 基本无腹泻情况, 精神

表 1 给药后各组症状发生动物数 (n=8)

Table 1 Number of animals with symptoms in each group after administration (n=8)

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	毛发变差、发暗等/只	厌食/只	腹胀/只	腹泻/只	口鼻出血/只	眼球出血等/只
对照	—	0	0	0	0	0	0
模型	—	8	8	8	6	5	2
YQFM	464.3	4	2	3	3	2	0
	928.6	4	1	3	2	2	0

状态也恢复;YQFM高剂量组仅2只大鼠出现腹泻现象,且仅腹泻不足2d即恢复正常。

给药后的大鼠体质量见表2。给药后第2、3、4次称体质量,与对照组比较,模型组大鼠体质量显著降低( $P < 0.001$ );与模型组比较,YQFM低、高剂量组的大鼠体质量显著上升( $P < 0.01, 0.001$ )。结果说明YQFM对心肌损伤大鼠的精神状态具有恢复作用。

### 3.2 YQFM对心肌损伤大鼠的心脏HE染色

结果如图1所示,对照组大鼠心肌细胞排列整齐有序,无明显的病理的改变;与对照组比较,模型组的心肌细胞有纤维排列紊乱和心肌细胞溶解并伴有出血现象;与模型组比较,YQFM给药组的心

肌细胞溶解现象和出血现象较少,说明YQFM对于心肌细胞损伤具有一定的改善作用。

### 3.3 对心肌损伤大鼠生化指标的影响

如图2所示,与对照组相比,模型组大鼠血清生化指标CK、LDH、MDA水平显著升高( $P < 0.001$ ),而SOD水平显著下降( $P < 0.001$ );与模型组比较,YQFM组CK、LDH、MDA水平显著下降( $P < 0.001$ ),而SOD水平显著升高( $P < 0.001$ )。结果说明YQFM有助于心肌损伤大鼠生化指标的改善。

### 3.4 肠道菌群指标

3.4.1 对心肌损伤大鼠肠道菌群多样性的影响  
如图3稀疏曲线所示,通过对32个样本测序,稀疏曲线的平缓程度反映了测序深度对于观测样本多

表2 给药后各组大鼠体质量变化情况( $\bar{x} \pm s, n=8$ )  
Table 2 Weight changes of rats in each group after administration ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	体质量/g			
		第1次	第2次	第3次	第4次
对照	—	248.25±7.85	256.25±8.01	268.63±6.35	280.63±6.78
模型	—	252.13±12.22	237.75±8.48***	228.13±5.62***	220.88±6.08***
YQFM	464.3	247.63±9.80	252.75±10.07###	261.75±9.87###	272.50±8.09###
	928.6	242.13±9.73	252.25±8.75##	256.63±10.08###	269.62±8.28###

与对照组比较:\*\*\* $P < 0.001$ ;与模型组比较:### $P < 0.001$   
\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ### $P < 0.001$  vs model group

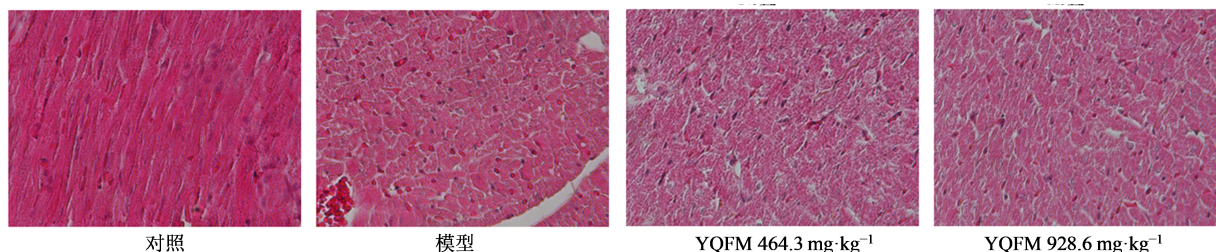
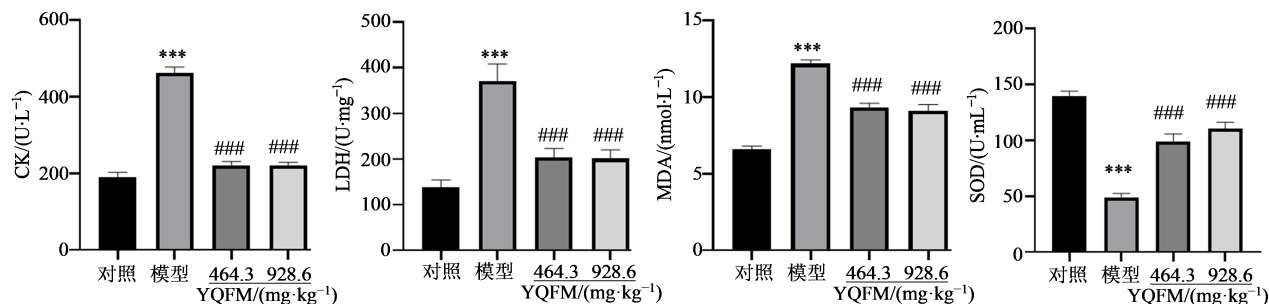


图1 各组大鼠心脏HE染色对比图

Fig. 1 HE staining comparison of rat hearts in each group



与对照组比较:\*\*\* $P < 0.001$ ;与模型组比较:### $P < 0.001$   
\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ### $P < 0.001$  vs model group

图2 YQFM对大鼠血清生化指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Fig. 2 Effect of YQFM on serum biochemical indexes of rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

性的影响大小,曲线逐渐平缓,一直延伸到X轴的右端,表明测序结果已足够反映当前样本所包含的多样性,可以用于后面的分析。

Alpha多样性指标如表3所示,Chao代表物种丰度,Simpson、Shannon代表物种多样性。与对照组相比,模型组的Chao1、Simpson和Shannon值显著下降( $P < 0.05, 0.01$ ),说明心肌损伤的大鼠肠道菌群的多样性和丰度下降。与模型组相比,YQFM低、高剂量组的Chao1、Shannon和Simpson值均显著升高( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ),说明YQFM有助于心肌损伤大鼠肠道菌群丰度和多样性的恢复。

3.4.2 对心肌损伤大鼠的肠道菌群结构的影响 基于距离矩阵与主坐标分析(PCoA)是考察组间差

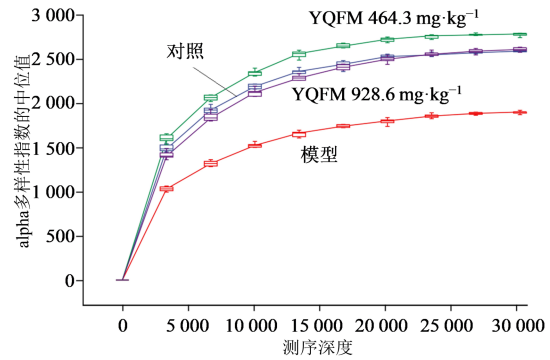


图3 稀疏曲线 Fig. 3 Sparse curve

异性的指标,结果见图4。PCo1可以说明对菌群的代 表性是 35.6%,PCo2 是 23.3%。4 组组间具有

表3 各样本Alpha多样性分析( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) Table 3 Alpha diversity analysis of samples ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	Chao1	Shannon	Simpson
对照	—	2 589.32±226.89	8.07±0.46	0.97±0.01
模型	—	1 899.54±308.80*	6.17±0.80**	0.88±0.04**
YQFM	464.3	2 772.60±483.18 <sup>###</sup>	8.40±0.63 <sup>###</sup>	0.98±0.01 <sup>###</sup>
	928.6	2 611.35±339.50 <sup>#</sup>	7.78±0.50 <sup>#</sup>	0.96±0.01 <sup>##</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  <sup>###</sup> $P < 0.001$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  <sup>###</sup> $P < 0.001$  vs model group

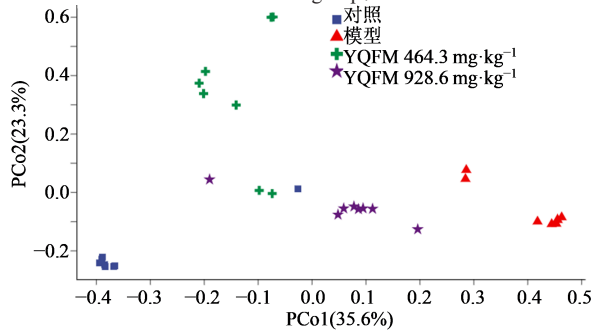


图4 距离矩阵与PCoA分析 Fig. 4 Distance matrix and PCoA analysis

明显差异,对照组和模型组具有明显差异性,而YQFM低、高剂量组相比模型组与对照组差异性更小,说明YQFM对改善肠道菌群结构具有一定效果。其中YQFM低剂量组相较于高剂量组更接近对照组,说明YQFM低剂量改善效果更好。

3.4.3 对心肌损伤大鼠肠道菌群的相对丰度的影响 如表4所示,在门和属2个方向分析,在门的水平上,与对照组相比,模型组菌群的数量显著下降( $P < 0.01$ );与模型组相比,YQFM低剂量组的菌群数量显著升高( $P < 0.01$ ),YQFM高剂量组的菌群数量也升高,但差异不具有统计学意义,说明YQFM低剂量对心肌损伤门的菌群数量具有恢复

表4 各组门、属的水平下菌群个数分析( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) Table 4 Analysis of number of flora at level of each group phylum and genus ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	门的水平下菌群个数	属的水平下菌群个数
对照	—	11.25±1.28	54.13±3.91
模型	—	8.75±1.67**	47.13±3.27**
YQFM	464.3	11.12±1.13 <sup>###</sup>	55.38±3.20 <sup>###</sup>
	928.6	9.50±1.07	54.88±3.14 <sup>###</sup>

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$  <sup>###</sup> $P < 0.001$

\*\* $P < 0.01$  vs control group; <sup>##</sup> $P < 0.01$  <sup>###</sup> $P < 0.001$  vs model group

作用。在属的水平上,与对照组相比,模型组的菌群数量显著减少( $P < 0.01$ );与模型组相比,YQFM低、高剂量组菌群数量显著上升( $P < 0.001$ ),说明YQFM对心肌损伤属的菌群数量具有恢复作用。

3.4.4 肠道菌群物种的组成差异度分析 如表5所示,共检测出4个菌门,其中厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)是主要菌门,其次是变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)。与对照组比较,模型组的拟杆菌门和放线菌门的丰度显著上升( $P < 0.01, 0.001$ );厚壁菌门和变形菌门的丰度显著下降( $P < 0.05, 0.001$ )。与模型组比较,YQFM低剂量组的拟杆菌门和放线菌门丰度显著

表 5 各样本菌群丰度分析 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 5 Analysis of bacterial abundance of each sample ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	厚壁菌门	拟杆菌门	变形菌门	放线菌门
对照	—	0.83±0.039	0.08±0.04	0.026±0.005	0.024±0.006
模型	—	0.69±0.04***	0.21±0.05**	0.018±0.004*	0.048±0.007***
YQFM	464.3	0.81±0.06##	0.10±0.06##	0.028±0.006##	0.035±0.007#
	928.6	0.78±0.05#	0.11±0.06#	0.038±0.004###	0.039±0.009

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  ### $P < 0.001$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  ### $P < 0.001$  vs model group

下降 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 厚壁菌门和变形菌门的丰度上升 ( $P < 0.01$ ); YQFM 高剂量组的拟杆菌门显著下降 ( $P < 0.05$ ), 厚壁菌门和变形菌门的丰度显著上升 ( $P < 0.05, 0.001$ )。说明 YQFM 有助于有益菌生长, 抑制致病菌的繁殖。

**3.4.5 对心肌损伤大鼠肠道菌群的均匀度的影响**  
如图 5 所示, 折线的平缓程度反映了群落组成的均匀度。折线越平缓, 群落组成的均匀度越高, 折线越陡峭, 则均匀度越低。与对照组相比, 模型组的肠道菌群的均匀度明显下降; 与模型组相比, YQFM 低、高剂量组肠道菌群的均匀度明显回升。4 组折线平缓程度依次为 YQFM 464.3 mg·kg<sup>-1</sup> 组、对照组、YQFM 928.6 mg·kg<sup>-1</sup> 组、模型组, 其中 YQFM 464.3 mg·kg<sup>-1</sup> 组最平缓, 模型组最陡峭。说明 YQFM 对于肠道菌群的均匀度发挥积极作用。

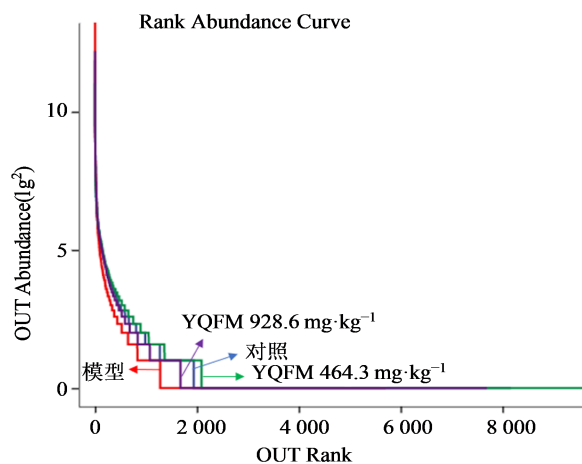


图 5 丰度等级曲线

Fig. 5 Abundance grade curve

#### 4 讨论

根据中医的整体辩证观念, 人是一个整体, 各个脏器和组织器官都有着不同的功能, 这些不同的功能又是整体活动的一个组成部分, 决定了机体的整体统一性, 因此, 在生理上相互联系并维持协调平衡, 在病理上也相互影响。研究表明肠道菌群不

仅在消化和吸收营养物质方面发挥着重要作用, 最新研究证明肠道微菌群与许多的肠道内部或者外部的疾病都有紧密相关, 例如广受关注的心血管疾病<sup>[15-16]</sup>。

目前阿霉素造成心肌损伤研究最多的机制是氧化应激<sup>[17]</sup>, 其他研究较多的机制还有蛋白酶系统激活机制、线粒体损伤和细胞凋亡等。这些机制发生过程都和氧化应激损伤相互联系, 相互促进。

由于阿霉素的化学结构中具有醌基, 醌基在还原酶的作用下产生半醌自由基, 与氧分子结合形成氧自由基, 氧自由基可以造成生物膜系统的破坏, 造成细胞凋亡, 形成心肌损伤<sup>[18]</sup>。SOD、MDA 和氧化应激机制紧密相关。其中 SOD 是存在于人体内消除自由基的一种重要的酶, 主要作用是消除过度的自由基积累, 自由基的过度积累可以导致氧化反应, 最终造成细胞损伤和凋亡<sup>[19]</sup>。当心肌细胞内 SOD 含量降低, 心肌细胞消除自由基能力下降, 自由积累过度, 导致膜脂质氧化代谢产物 MDA 含量增高<sup>[20]</sup>, 因此, MDA 是细胞内脂质过氧化反应的最终产物。而 LDH 和 CK 主要和线粒体损伤机制有关, 二者主要存在于心肌、骨骼和心肌细胞的线粒体当中, 当心肌细胞受到损伤时 LDH 和 CK 含量明显升高。心肌损伤发生时, SOD 活性下降, MDA、LDH、CK 含量升高; YQFM 给药后 SOD 活性上升, MDA、LDH、CK 含量下降, 说明 YQFM 对于阿霉素造成的心肌损伤具有改善作用。

通过对肠道菌群指标的分析, Alpha 多样性分析结果显示了心肌损伤肠道细菌的丰度和多样性较对照组减少, YQFM 低、高剂量组的 Alpha 多样性分析指数较模型组均有回调, 说明 YQFM 可改善心肌损伤大鼠肠道细菌的丰度和多样性。PCoA 图结果分析, 对照组与 YQFM 低、高剂量组的距离差异比对照组与模型组的距离差异要小, 说明 YQFM 可以改善肠道菌群结构, 更接近于对照组。在分类单元的统计中发现 YQFM 可以改善菌群数量, YQFM

低、高剂量均较模型组有明显的数量提升。在物种的组成差异度的分析中,分析了在门的水平下各组间主要菌群的差异,主要富集的菌群是厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)。其次是变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)。一些菌群与炎症和氧化应激相关,而这些与阿霉素造成的心肌损伤的机制又紧密联系。其中拟杆菌门被证实与炎症有着关联,当炎症治疗有效时,拟杆菌门数量减少<sup>[21]</sup>。He等<sup>[22]</sup>通过实验发现厚壁菌门和变形菌门是产生乳糖酶的主要菌群,在给予YQFM后2种菌群数量增加,推测通过控制半乳糖酶来调整心脏的稳态。对于丰度等级曲线的分析,YQFM对于肠道菌群的均匀度具有很好的积极恢复趋势。

YQFM对阿霉素造成的心肌损伤大鼠的肠道菌群发挥积极作用,可改善因阿霉素导致的大鼠肠道细菌紊乱,具有抑制致病菌生长,促进有益菌生长的作用。但其作用机制尚不明确,因大鼠个体差异带来的影响不能完全排除,上述结果有待后续扩大实验样本量进行考证,并探究其机制。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Singal P K, Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. N Engl J Med, 1998, 339(13): 900-905.
- [2] 王青伟,丁荣晶.阿霉素诱导心脏毒性的发病机制与防治[J].自然杂志,2022,44(2): 103-108.  
Wang Q W, Ding R J. Pathogenic mechanism, prevention and treatment of doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Chin J Nat, 2022, 44(2): 103-108.
- [3] 郭辅定,赖燕秋,江洪.蒽环类药物相关心脏毒性的研究进展[J].疑难病杂志,2021,20(3): 299-303, 309.  
Guo F D, Lai Y Q, Jiang H. Research progress of anthracycline-related cardiotoxicity [J]. Chin J Difficult Complicat Cases, 2021, 20(3): 299-303, 309.
- [4] 马军,沈志祥,秦叔逵.防治蒽环类抗肿瘤药物心脏毒性的中国专家共识(2011版)[J].临床肿瘤学杂志,2011,16(12): 1122-1129.  
Ma J, Shen Z X, Qin S K. Chinese expert consensus on prevention and treatment of cardiac toxicity of anthracycline anticancer drugs (2011 edition) [J]. Chin Clin Oncol, 2011, 16(12): 1122-1129.
- [5] 徐一斌,李若谷,方唯一.抗肿瘤药物的心血管毒副反应[J].心血管病学进展,2010,31(3): 392-398.  
Xu Y B, Li R G, Fang W Y. Review of cardiovascular toxicities of anti-cancer agents [J]. Adv Cardiovasc Dis, 2010, 31(3): 392-398.
- [6] 李德坤,苏小琴,李智,等.注射用益气复脉(冻干)的质量标志物研究[J].中草药,2019,50(2): 290-298.  
Li D K, Su X Q, Li Z, et al. Study on quality marker of Yiqi Fumai Lyophilized Injection [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(2): 290-298.
- [7] 张磊,苏小琴,李德坤,等.基于临床疗效的注射用益气复脉(冻干)质量标志物确证[J].中草药,2021,52(18): 5741-5750.  
Zhang L, Su X q, Li D k, et al. Verification of quality marker in Yiqi Fumai Lyophilized Injection based on clinical efficacy [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(18): 5741-5750.
- [8] 杜韩,孟昭平,原景,等.注射用益气复脉(冻干)对心血管系统的药理及临床研究进展[J].药物评价研究,2021,44(11): 2300-2307.  
Du H, Meng Z P, Yuan J, et al. Pharmacological effects and clinical research progress of Yiqi Fumai Lyophilized Injection on cardiovascular diseases [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(11): 2300-2307.
- [9] 王秀丹,万梅绪,左娜,等.注射用益气复脉(冻干)及其组分对阿霉素所致大鼠急性心肌梗死的保护作用研究[J].药物评价研究,2020,43(8): 1522-1527.  
Wang X D, Wan M X, Zuo N, et al. Rationality of Yiqi Fumai Lyophilized Injection against doxorubicin induced acute myocardial injury in rats [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(8): 1522-1527.
- [10] 萧铠昊.肠道菌群对脓毒症心肌损伤作用的研究进展[J].国际儿科学杂志,2021,48(8): 543-546.  
Xiao K H. The role of gut microbiota in myocardial dysfunction induced by Sepsis [J]. Int J Pediatr, 2021, 48(8): 543-546.
- [11] 黄鑫.基于肠道菌群探讨益气活血中药治疗脓毒症心肌病的作用机制[D].广州:广州中医药大学,2019.  
Huang X. Experimental study on the mechanism of Yiqi Huoxue drugs in the treatment of Sepsis cardiomyopathy based on intestinal flora [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2019.
- [12] 杨天舒,瞿惠燕,戎靖枫,等.鹿红颗粒对心肌缺血再灌注损伤大鼠肠道菌群的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(3): 418-422.  
Yang T S, Qu H Y, Rong J F, et al. Effect of luhong granule on intestinal flora in rats with myocardial ischemia reperfusion injury [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2021, 19(3): 418-422.
- [13] 苏丹,刘鹏飞,张柳,等.阿霉素心肌损伤大鼠模型的制备与评价[J].中国实验动物学报,2009,17(6): 442-444, 396.  
Su D, Liu P F, Zhang L, et al. Establishment and

- evaluation of a rat model of adriamycin-induced myocardial injury [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*, 2009, 17(6): 442-444, 396.
- [14] 吕清波, 潘均华, 李 帅, 等. 阿霉素急性心脏毒性大鼠造模方法研究 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(2): 301-307.  
Lü Q B, Pan J H, Li S, et al. Study on model establishment of adriamycin induced acute cardiotoxicity in rats [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(2): 301-307.
- [15] 王玲洁, 陆 林, 张凤如, 等. 肠道菌群与心力衰竭关系的研究进展 [J]. *国际心血管病杂志*, 2018, 45(2): 76-78.  
Wang L J, Lu L, Zhang F R, et al. Research progress on the relationship between intestinal flora and heart failure [J]. *Int J Cardiovasc Dis*, 2018, 45(2): 76-78.
- [16] 马晓聪, 熊兴江, 莫 毅, 等. 基于 16S rDNA 测序技术的自发性高血压大鼠肠道菌群结构变化及中药干预作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(8): 71-74, 265.  
Ma X C, Xiong X J, Mo Y, et al. Study on changes of intestinal microflora in spontaneously hypertensive rats based on 16S rDNA sequencing and intervention of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2020, 38(8): 71-74, 265.
- [17] 朱 帅. 阿霉素致心肌损伤大鼠模型的制备与评价 [D]. 长春: 吉林大学, 2014.  
Zhu S. Establishment and evaluation of a rat model of doxorubicin-induced myocardial damage [D]. Changchun: Jilin University, 2014.
- [18] Doroshow J H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart [J]. *Cancer Res*, 1983, 43(2): 460-472.
- [19] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase. an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. *J Biol Chem*, 1969, 244(22): 6049-6055.
- [20] Mann T, Keilin D. Haemocuprein and hepatocuprein, copper-protein compounds of blood and liver in mammals [J]. *Proc R Soc Lond B*, 1938, 126(844): 303-315.
- [21] Lu W W, Fu T X, Wang Q, et al. The effect of total glucoside of paeony on gut microbiota in NOD mice with Sjögren's syndrome based on high-throughput sequencing of 16SrRNA gene [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 61.
- [22] He L, Liu Y W, Guo Y F, et al. Diversity of intestinal bacterial lactase gene in antibiotics-induced diarrhea mice treated with Chinese herbs compound Qi Wei Bai Zhu San [J]. *3 Biotech*, 2018, 8(1): 4.

[责任编辑 兰新新]