

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.23.016

益气化痰祛瘀方对慢性间歇缺氧模型大鼠肝脏及肠道微生物的影响

伍娟¹, 楼莹¹, 陈沁^{2*}, 吴润华², 王小婷¹

(1. 福建中医药大学临床技能教学中心, 福建省福州市闽侯县上街邱阳路 1 号, 350122; 2. 福建中医药大学中西医结合学院)

摘要 目的 探讨益气化痰祛瘀方治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征肝损伤的可能作用机制。方法 40 只 SD 大鼠随机分为常氧对照组, 模型组和益气化痰祛瘀低、高剂量组, 每组 10 只。除常氧对照组外其余各组大鼠每天 9:00–17:00 置于低氧舱中共 8 周制备慢性间歇缺氧模型。造模第 1 天开始益气化痰祛瘀低、高剂量组分别给予益气化痰祛瘀方 19.2、38.4 ml/(kg·d) 灌胃, 常氧对照组和模型组给予 2 ml 生理盐水灌胃, 共 8 周。HE 染色观察大鼠肝组织病理变化, 检测血清门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 水平, 16S 多样性测序检测肠道微生物组成和相对丰度变化。结果 模型组大鼠 HE 染色显示, 肝细胞轻度水肿, 肝组织炎症细胞浸润; 血清 AST 和 ALT 较常氧对照组显著升高 ($P < 0.05$)。益气化痰祛瘀高、低剂量组肝细胞呈条索状排列, 炎症细胞减少, 且益气化痰祛瘀高剂量组较较低剂量组改善更明显, 益气化痰祛瘀高剂量组血清 AST 和 ALT 亦较模型组降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。16S 多样性测序分析显示, 常氧对照组特有微生物为 310 种, 模型组 112 种, 益气化痰祛瘀低剂量组 126 种, 益气化痰祛瘀高剂量组 138 种。各组大鼠在门水平相对丰度前五的物种为: 厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、TM7 菌门, 各组大鼠组间各菌门组相对丰度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与常氧对照组比较, 模型组在属水平上乳酸杆菌、布劳特氏菌减少, 颤螺菌属、别样棒菌属菌增多 ($P < 0.05$); 益气化痰祛瘀低、高剂量组乳杆菌属、布劳特氏菌属较模型组增多 ($P < 0.05$)。结论 益气化痰祛瘀方能影响肠道微生物种类、组成和丰度, 调控短链脂肪酸的生成可能是其治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征肝损伤的机制之一。

关键词 益气化痰祛瘀方; 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征; 慢性间歇缺氧; 肝损伤; 肠道菌群

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS) 表现为睡眠时打鼾并伴有呼吸暂停和呼吸表浅, 夜间反复发生低氧血症、高碳酸血症和睡眠结构紊乱, 导致白天嗜睡, 心、脑、肺血管并发症乃至多脏器损害, 严重影响患者的生活质量^[1]。OSAHS 患者最主要的健康负担是严重的多器官损害并发症, 其中包括肝损伤的风险增加。OSAHS 肝损伤的发病机制尚不完全清楚, 其中慢性间歇缺氧 (chronic intermittent hypoxia, CIH) 诱导机体发生氧化应激和炎症反应是 OSAHS 肝损伤的最重要机制^[2]。益气化痰祛瘀方由益气活血祛瘀经典方补阳还五汤及化痰经典方涤痰汤化裁而成, 具有益气化痰祛瘀开窍的功效。课题组前期研究表明, 益气化痰祛瘀中药可改善 OSAHS 患者的临床症状, 改善睡眠呼吸暂

停低通气指数 (AHI) 值及夜间最低血氧饱和度^[3], 具有减低 CIH 大鼠血清门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 水平, 防治 OSAHS 及减少肝损害的作用^[4]。本研究旨在观察益气化痰祛瘀方对 CIH 大鼠肝组织及肠道微生物的影响, 以进一步探讨益气化痰祛瘀方治疗 OSAHS 肝损伤的可能作用机理。

1 材料与方法

1.1 动物

健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 8 周龄, 体重 (180 ± 20) g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (沪 2017-0005), 批号: 2007000531494。

1.2 药物

益气化痰祛瘀方: 黄芪 30 g, 党参 30 g, 当归 9 g, 川芎 12 g, 胆南星 12 g, 法半夏 9 g, 枳实 9 g,

* 通讯作者: 939346300@qq.com

茯苓 9 g 等, 置煎煮容器内, 加相当于药材量 5~7 倍的冷水浸泡 1~2 h, 煮沸 30 min, 过滤。药渣加 3~5 倍量水继续煎煮, 煮沸 20 min, 过滤。合并两次滤液, 于水浴上浓缩成每毫升相当于原生药材 0.5 g 的药液, 冷却后装入灭菌药瓶, 置 4℃ 冰箱保存。

1.3 主要试剂及仪器

10% 水合氯醛 (永华化学科技有限公司, 批号: 20181101); 4% 多聚甲醛 (广州赛国生物科技有限公司, 批号: 1800122)、苏木素-伊红染色液 (赛维尔生物科技有限公司, 批号: 180634); AST 试剂盒 (批号: 20171229)、ALT 试剂盒 (批号: 20180104), 南京建成生物工程研究所; 二代测序 DNA 文库试剂盒 (美国 Illumina 公司, 货号: TruSeq™ DNA Sample Prep)。

低氧舱 (XBS-03 型, 杭州艾普仪器公司); 控氧仪 (KY-2F 型, 南京柏曼公司); 光学显微镜 (BX53 型, 日本 Olympus 公司)。

1.4 动物造模、分组及给药

40 只 SD 大鼠按照随机数字表法分为常氧对照组, 模型组和益气化痰祛瘀低、高剂量组, 每组 10 只。模型组与化痰祛瘀低、高剂量组每天 9:00~17:00 进行间歇性低氧处理制备 CIH 模型^[9]: 低氧舱采用控氧仪进行氧浓度的控制, 即向低氧舱中循环充入氮气和氧气, 达到并维持预定的氧气浓度, 其中最低氧浓度为 5.1%, 最高氧浓度为 21%。每一循环周期分为 4 个阶段, 即氧浓度下降期 (50 s)、低氧维持期 (20 s)、氧浓度上升期 (30 s)、常氧维持期 (20 s), 共计 120 s, 用以模拟呼吸暂停低通气指数为 30 次/h 的中度 OSAHS, 共 8 周。常氧对照组在每天同一时间给予相同频率的间歇常氧处理。

造模第 1 天开始灌胃给药: 益气化痰祛瘀低、高剂量组分别于给予益气化痰祛瘀方 19.2、38.4 ml/(kg·d) 灌胃, 分别于造模前、造模后 30 min 给药, 每日 2 次; 常氧对照组和模型组给予 2 ml 生理盐水灌胃, 造模期间饮食饮水不限, 共 8 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 肠道微生物 16S 多样性测序分析 在实验结束前 2 天下午 5:00 将大鼠放入干净的代谢笼中禁食, 取材前 1 天上午 9:00 用镊子及时收集代谢笼中的粪便, 装入 5 ml 离心管中, 存放于 -80℃ 冰箱用于肠道菌群 16S 多样性测序分析, 由深圳微科服科技有限公司完成。对粪便样本进行洗涤, 以去除其中不溶性的杂质以及下游反应的抑制物。提取肠道菌群总 RNA, 建立 DNA 文库, 使用二代测

序 DNA 文库试剂盒对打断的 DNA 片段进行文库。然后进行 PCR 扩增, 设计引物。PCR 扩增体系 25 μl。反应条件: 预变性 98℃, 30 s; 变性 98℃, 10 s; 退火 65℃, 30 s; 延伸 72℃, 30 s; 终延伸 72℃, 5 min, 变性到延伸重复 6~16 个循环。最后高通量测序, 使用 Hiseq2500 PE250 上机测序。根据测序结果, 依次对门、属水平上的物种分类级别进行分类分析。显著丰度差异特征采用线性判别分析 (LDA) >2 的类群, 每个组分 (物种) 丰度对差异效果影响的大小采用 LEf Se 和 Alpha 多样性指数统计。生物信息分析运用 QIIME2 dada2 插件进行质控、修剪、去噪、拼接以及去除嵌合体后, 然后将相似度大于 99% 的序列挑选出来并聚类为一个操作分类单位 (operational taxonomic units, OTUs)。

1.5.2 血清 AST、ALT 水平 取材前 1 晚禁食, 取材当天称重后以 10% 水合氯醛 (0.3 ml/100 g) 腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血。分离血清, 置于 -20℃ 冰箱。操作步骤按照试剂盒步骤进行。

1.5.3 肝组织病理观察 摘取肝右叶肝组织 1 cm × 1 cm × 1 cm, 用无菌生理盐水冲洗干净后, 4% 多聚甲醛固定, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 制备石蜡切片 (厚度为 4 μm), 用苏木素-伊红染色, 中性树脂封片, 光学显微镜下 (×40) 观察肝组织的病理改变。

1.6 统计学方法

应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析处理, 计量数据符合正态分布以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清 ALT、AST 水平比较

表 1 示, 与常氧对照组比较, 模型组大鼠血清 AST 和 ALT 显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 益气化痰祛瘀低、高剂量组大鼠血清 AST 和 ALT 显著降低 ($P < 0.05$); 益气化痰祛瘀高剂量组较益气化痰祛瘀低剂量组大鼠血清 AST 和 ALT 显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠肝脏组织病理学观察

HE 染色结果显示, 常氧对照组大鼠肝细胞排列整齐, 呈多边形, 细胞核位置居中。模型组肝细胞轻度水肿, 肝组织炎症细胞浸润。益气化痰祛瘀低剂量组视野中肝细胞轻度水肿, 少量炎症细胞浸润。益气化痰祛瘀高剂量组肝小叶完整, 肝细胞呈

条索状排列,视野中只有极少数炎症细胞,且益气化痰祛瘀高剂量组相较益气化痰祛瘀低剂量组炎症改善更明显。

表 1 各组大鼠血清 AST、ALT 水平比较 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	AST	ALT
常氧对照组	10	91.41 $\pm$ 6.84	33.34 $\pm$ 1.19
模型组	10	271.96 $\pm$ 14.80*	94.62 $\pm$ 4.68*
益气化痰祛瘀低剂量组	10	182.37 $\pm$ 3.01 Δ	67.08 $\pm$ 5.96 Δ
益气化痰祛瘀高剂量组	10	136.34 $\pm$ 1.32 $\Delta\Delta\Delta$	46.56 $\pm$ 4.19 $\Delta\Delta$

注: AST, 门冬氨酸氨基转移酶; ALT, 丙氨酸氨基转移酶; 与常氧对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与益气化痰祛瘀低剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 各组大鼠肠道微生物种类结果

16S 多样性测序分析显示,常氧对照组、模型组和益气化痰祛瘀低、高剂量组大鼠肠道共有微生物 290 种;常氧对照组特有微生物 310 种,模型组特有微生物 112 种,益气化痰祛瘀低剂量组特有微生物 126 种,益气化痰祛瘀高剂量组特有微生物 138 种,提示造模后大鼠肠道微生物种类减少,而使用益气化痰祛瘀方干预后肠道微生物种类增多,且以益气化痰祛瘀高剂量增多较益气化痰祛瘀低剂量明显。

2.4 各组大鼠肠道微生物在门水平上组成及相对丰度比较

表 2 示,各组大鼠在门水平相对丰度前 5 的物种为:厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、TM7 菌门,各组大鼠组间各菌门

表 2 各组大鼠肠道微生物门水平相对丰度比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	厚壁菌门	拟杆菌门	变形菌门	放线菌门	TM7 菌门
常氧对照组	10	76.4 $\pm$ 9.6	16.6 $\pm$ 5.6	5.8 $\pm$ 5.8	0.3 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.3
模型组	10	73.7 $\pm$ 4.7	15.1 $\pm$ 4.9	9.8 $\pm$ 5.9	0.7 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.2
益气化痰祛瘀低剂量组	10	76.1 $\pm$ 0.9	15.6 $\pm$ 2.6	6.5 $\pm$ 2.0	0.8 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.2
益气化痰祛瘀高剂量组	10	75.8 $\pm$ 4.5	16.6 $\pm$ 7.5	3.0 $\pm$ 0.9	0.9 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.2

表 3 各组大鼠肠道微生物属水平相对丰度比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	未分类的	颤螺菌属	乳杆菌属	瘤胃球菌属	考拉杆菌属
常氧对照组	10	66.4 $\pm$ 12.1	3.5 $\pm$ 2.5	7.6 $\pm$ 2.1	2.3 $\pm$ 1.3	0.4 $\pm$ 0.2
模型组	10	60.2 $\pm$ 7.2	9.0 $\pm$ 2.5*	1.0 $\pm$ 0.8*	1.7 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.4
益气化痰祛瘀低剂量组	10	59.1 $\pm$ 2.5	5.0 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.0 Δ	1.8 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.8
益气化痰祛瘀高剂量组	10	66.4 $\pm$ 7.1	5.7 $\pm$ 2.3	3.4 $\pm$ 1.1 Δ	1.7 $\pm$ 0.6	0.9 $\pm$ 0.2

组别	鼠数	粪球菌属	普氏菌属	脱磷孤菌属	布劳特氏菌属	别样棒菌属
常氧对照组	10	1.8 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.9	0.5 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.2	10.2 $\pm$ 2.3
模型组	10	0.8 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.0*	17.5 $\pm$ 6.1*
益气化痰祛瘀低剂量组	10	0.4 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1 Δ	18.1 $\pm$ 2.8
益气化痰祛瘀高剂量组	10	0.6 $\pm$ 0.2	0.04 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.1 Δ	17.6 $\pm$ 5.1

注: 与常氧对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

相对丰度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.5 各组大鼠肠道微生物在属水平上组成及相对丰度比较

表 3 示,各组大鼠在属水平相对丰度前 10 的物种为:未分类的 (Unclassified)、别样棒菌属 (Allobaculum)、颤螺菌属 (Oscillospira)、乳杆菌属 (Lactobacillus)、瘤胃球菌属 (Ruminococcus)、考拉杆菌属 (Phascolarctobacterium)、粪球菌属 (Coprococcus)、普氏菌属 (Prevotella)、脱磷孤菌属 (Desulfovibrio)、布劳特氏菌属 (Blautia)。与常氧对照组比较,模型组在属水平上乳杆菌属、布劳特氏菌属减少,颤螺菌属、别样棒菌属相对丰度增多 ($P < 0.05$);与模型组比较,益气化痰祛瘀低、高剂量组乳杆菌属、布劳特氏菌属相对丰度增多 ($P < 0.05$)。

2.6 各组大鼠肠道微生物 OTUs 总数比较

表 4 示,Alpha 多样性指数组间差异检验结果显示:与常氧对照组比较,模型组微生物群落物种 OTUs 总数明显降低 ($P < 0.05$);益气化痰祛瘀高剂量组较模型组微生物群落物种 OTUs 总数明显升高 ($P < 0.05$)。图 1 用 LEfSe 方法分析了常氧对照组、模型组和益气化痰祛瘀高剂量组间肠道微生物丰度的差异,结果显示,与常氧对照组和模型组比较,益气化痰祛瘀高剂量组布劳特氏菌显著增多;与常氧对照组和益气化痰祛瘀高剂量组比较,模型组放线菌、伯克氏菌科显著增多;与模型组和益气化痰祛瘀高剂量组比较,常氧组杆菌和乳酸杆菌显著增多。

表 4 各组大鼠肠道微生物 OTUs 总数比较 (个, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	OTUs 总数
常氧对照组	10	344
模型组	10	275*
益气化痰祛瘀低剂量组	10	302
益气化痰祛瘀高剂量组	10	326 [△]

注: 与常氧对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

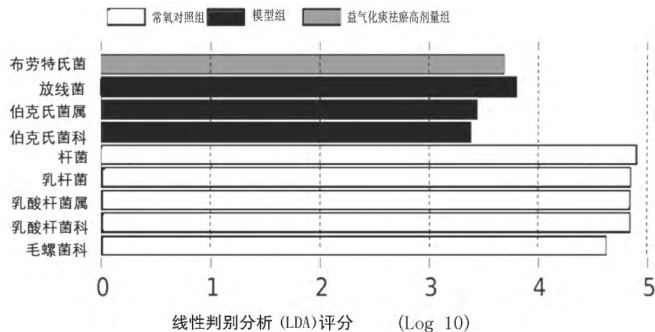


图 1 各组大鼠肠道微生物 OTUs 总数差异
LEfSe 方法分析结果

3 讨论

依据 OSAHS 临床表现可将其归属于中医学“鼾眠”“鼾症”范畴,本病病因不外先天禀赋异常及后天调摄失当,导致肺、脾、肾三脏功能失调,痰浊内生,结聚日久,脉络瘀阻,痰瘀互结,气道不利,或脾气虚弱,土不生金致肺脾气虚,气血化源匮乏,咽部肌肉失去气血充养则痿软无力,致气道塌陷,气流入受阻而发病。有研究^[8]发现,OSAHS 引起的肝损伤病理上主要表现为非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)。我们认为,OSAHS 及 NAFLD 共同的病理因素主要在于痰、瘀、虚,据此确立益气化痰祛瘀的治法。益气化痰祛瘀方中黄芪能大补脾胃之元气,使气旺血行,瘀去络通;当归长于活血,兼能养血,因而有化瘀而不伤血之妙;胆南星其味苦性凉,清热化痰,治实痰实火之壅塞;半夏、枳实、茯苓理气燥湿化痰;党参、茯苓益气健脾,固护后天之本,杜绝生痰之源。全方具有益气化痰祛瘀开窍之功。

OSAHS 患者由于反复发生上气道阻塞,而反复出现缺氧和再氧合,产生了过多的活性氧。活性氧可导致脂质过氧化,尤其是影响细胞膜的不饱和脂肪酸,使细胞膜的理化性质发生改变,通过影响细胞膜受体和酶的活性、抗原表达、细胞间的相互作用以及膜通透性,而导致肝细胞的破坏和坏死^[9]。氧化应激和炎症反应一旦启动,两者之间相互刺激并加强,大量的氧化应激产物和炎症因子导致肝脏细胞结构改变和功能障碍,成为 OSAHS

肝脏损害的重要机制^[8]。本实验中 HE 染色显示,模型组大鼠肝细胞发生明显炎症浸润,视野中满布大量炎症细胞,血清 AST、ALT 表达较常氧对照组均明显升高,说明模型组大鼠肝脏发生炎症反应,肝组织损伤。而益气化痰祛瘀高、低剂量组大鼠肝组织炎症细胞明显减少,肝脏炎症损伤明显好转,血清 AST、ALT 水平降低,并且益气化痰祛瘀高剂量组效果更佳。以上结果提示益气化痰祛瘀方可以改善 CIH 大鼠肝脏炎症反应,保护肝细胞,进而改善肝功能。

肠道微生态系统是人体最庞大和最重要的微生态系统,当肠道内菌群组成、比例失调,肠道微生物与机体之间的平衡被打破,菌群就会从短链脂肪酸、内毒素血症、胆碱、胆汁酸代谢等多种途径影响宿主的健康^[10]。近年来研究显示,在暴露于 6 周间歇性缺氧状态下的小鼠中发现了更高丰度的厚壁菌和较低丰度的拟杆菌及变形杆菌^[11];常氧恢复后,间歇缺氧组乳酸菌和瘤胃球菌丰度呈显著负相关,粘液菌属和脱硫弧菌的丰度和血浆脂多糖水平呈正相关^[11],这些研究表明 OSAHS 影响肠道微生物的组成和丰度。16S 多样性测序分析结果显示,模型组较常氧对照组肠道微生物种类减少,而益气化痰祛瘀高、低剂量组肠道微生物种类较模型组增多,且益气化痰祛瘀高剂量组增多更明显。各组大鼠组间各菌门相对丰度差别不大。而在属水平上,与常氧对照组比较,模型组乳酸杆菌、布劳特氏菌减少,颤螺菌属、别样棒菌属菌增多;益气化痰祛瘀低、高剂量组乳酸杆菌、布劳特氏菌较模型组增多。乳酸杆菌和布劳特氏菌是产生短链脂肪酸的主要菌种^[12-13],提示益气化痰祛瘀方能影响肠道微生物种类、组成和丰度,通过调控短链脂肪酸的生成可能是其治疗 CIH 大鼠肝损伤的机制之一,但 OSAHS 肝损伤的发病原因复杂,因此仍需进一步研究来阐明其作用机理。

参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会睡眠呼吸障碍学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(1): 9-12.
- [2] PULIXI EA, TOBALDINI E, BATTEZZATI PM, et al. Risk of obstructive sleep apnea with daytime sleepiness is associated with liver damage in non-morbidly obese patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e96349.
- [3] 陈沁, 林劲榕, 洪旭初, 等. 加味涤痰汤对老年阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者氧化应激和炎症反应的干

- 预作用 [J]. 中华老年医学杂志, 2015, 34(7): 715-719.
- [4] 贺心如, 林其昌, 陈沁. 益气化痰祛瘀方药对慢性间歇低氧大鼠肝肺氧化应激及病理学改变的作用 [J]. 中华医学杂志, 2017, 97(6): 457-461.
- [5] CAI XH, LI XC, JIN SW, et al. Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after chronic intermittent hypoxia in growing rats [J]. Exp Neurol, 2014, 257: 148-156. doi: 10.1016/j.expneurol.2014.04.029.
- [6] 郭锋, 魏永莉, 田峰, 等. 睡眠呼吸暂停低通气综合征患者间歇性缺氧状态与非酒精性脂肪性肝病关系的研究 [J]. 中国现代医生, 2014, 52(13): 25-27.
- [7] MINOGUCHI K, YOKOET, TANAKA A, et al. Association between lipid peroxidation and inflammation in obstructive sleep apnea [J]. Eur Respir, 2006, 28(2): 378-385.
- [8] OLIVEIRA CP, COELHO AM, BARBEIRO HV, et al. Liver mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of experimental nonalcoholic fatty liver disease [J]. Braz J Med Biol Res, 2006, 39(2): 189-194.
- [9] JANSSEN AW, KERSTEN S. The role of the gut microbiota in metabolic health [J]. FASEB J, 2015, 29(8): 3111-3123.
- [10] MORENO-INDIAS I, TORRES M, SANCHEZ-ALCOHOLADO L, et al. Normoxic recovery mimicking treatment of sleep apnea does not reverse intermittent hypoxia-induced bacterial dysbiosis and low-grade endotoxemia in mice [J]. Sleep, 2016, 39(10): 1891-1897.
- [11] MORENO-INDIAS I, TORRES M, MONTSERRAT JM, et al. Intermittent hypoxia alters gut microbiota diversity in a mouse model of sleep apnoea [J]. Eur Respir J, 2015, 45(4): 1055-1065.
- [12] 王璐璇, 刘明宏, 朱继开, 等. 短链脂肪酸在疾病治疗中的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(13): 1179-1186.
- [13] 林日添, 吴维, 刘占举. 短链脂肪酸对肠黏膜稳态免疫调节作用的研究进展 [J]. 免疫学杂志, 2017, 33(10): 900-904.

Effect of *Yiqi Huatan Quyu Recipe* (益气化痰祛瘀方) on Liver and Intestinal Microorganism in Chronic Intermittent Hypoxia Model Rats

WU Juan¹, LOU Ying¹, CHEN Qin², WU Runhua², WANG Xiaoting¹

(1. Clinical Skills Teaching Center of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122; 2. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of *Yiqi Huatan Quyu Recipe* (益气化痰祛瘀方) in treating liver injury of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome (OSAHS). **Methods** Totally 40 SD rats were randomly divided into normoxic control group, model group, *Yiqi Huatan Quyu Recipe* low-dose group, and high-dose group, with 10 rats in each group. All groups but normoxic control group were placed in the hypoxic chamber for 8 weeks from 9:00 to 17:00 every day to prepare a chronic intermittent hypoxia model. On the first day of modeling, the *Yiqi Huatan Quyu Recipe* low-dose and high-dose groups were administered with *Yiqi Huatan Quyu Recipe* 19.2, 38.4 ml/(kg·d) respectively, and the normoxic control group and the model group were given 2 ml normal saline by gavage for 8 weeks. HE staining was used to observe the pathological changes of rat liver tissue. Serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels were detected. 16S diversity sequencing was used to detect intestinal microbial composition and relative abundance. **Results** In the model group, HE staining of the model group showed mild hepatic edema and inflammatory cell infiltration of liver tissue, serum AST and ALT were significantly increased compared with the normoxic control group ($P < 0.05$). The hepatocytes in the *Yiqi Huatan Quyu Recipe* high- and low-dose groups were arranged in a strip-like shape, and the inflammatory cells were decreased. The improvement of the *Yiqi Huatan Quyu Recipe* high-dose group improved more obviously, and AST and ALT were also decreased compared with those of the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). 16S diversity sequencing analysis showed that there were 310 endemic microorganisms in the normoxia control group, 112 in the model group, 126 in the *Yiqi Huatan Quyu Recipe* low-dose group, and 138 in the *Yiqi Huatan Quyu Recipe* high-dose group. The top 5 species in the relative abundance of the rats in each group were *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, TM7, and there was no significant difference in relative abundance in each group of rats. Compared with the normoxic control group, the model group decreased the *Lactobacillus* and *Braunella* at the genus level, and increased in *Diphtheria* and *Corynebacterium* ($P < 0.05$). *Lactobacillus* and *Brouser* were increased in the *Yiqi Huatan Quyu Recipe* low- and high-dose group compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Yiqi Huatan Quyu Recipe* could affect the microbial species, composition and abundance of intestinal microflora. It may be one of the mechanisms for the treatment of liver injury caused by OSAHS by regulating the production of short-chain fatty acids. **Keywords** *Yiqi Huatan Quyu Recipe* (益气化痰祛瘀方); obstructive sleep apnea hypopnea syndrome; chronic intermittent hypoxia; liver injury; intestinal flora

(收稿日期: 2019-01-21; 修回日期: 2019-04-18)

编辑: 邓 媛