

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2024.13.009

临床研究

通脑益智方对非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者认知功能及肠道菌群的影响

颜习武¹, 亢姣阳², 孟婷², 刘金凤², 来迎龙², 祝怡薇², 常诚^{1✉}

1. 南京中医药大学附属医院, 江苏省南京市秦淮区汉中路155号, 210029; 2. 南京中医药大学第一临床医学院

[摘要] **目的** 探讨通脑益智方治疗非痴呆型血管性认知障碍(VCIND)脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者的作用机制。**方法** 92例VCIND脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者随机分为治疗组50例和对照组42例。两组均予常规基础治疗,对照组联合口服多奈哌齐片,每次5 mg,每晚1次;治疗组联合通脑益智方,每日1剂,水煎分早晚两次口服。两组均连续治疗3个月。治疗前后比较两组患者简易精神状态检查量表(MMSE)评分、血管性痴呆评估量表(VaDAS-Cog)评分、日常生活能力量表(ADL)评分、中医证候评分(主症包括思维呆滞、善忘无记、性情改变、语言错乱,次症包括腰膝酸软、头晕头痛、耳鸣时作、神疲乏力、肢体困重、失眠烦躁、纳呆脘胀、面部发麻)。比较两组患者肠道菌群多样性和菌群丰度结构的变化及粪便中短链脂肪酸(SCFAs)水平(包括乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、异戊酸、戊酸、己酸)。并纳入同期20例健康受试者粪便相关数据作为参照。研究过程中进行安全性观察。**结果** 与本组治疗前比较,两组患者治疗后MMSE评分升高,VaDAS-cog评分降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),治疗组ADL评分较治疗前升高($P<0.05$)。两组患者治疗后思维呆滞、善忘无记、性情改变、语言错乱、肢体困重、失眠烦躁、纳呆脘胀、面部发麻评分及中医证候总分均较治疗前明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗后组间比较,治疗组腰膝酸软、耳鸣时作、神疲乏力、肢体困重、失眠烦躁、纳呆脘胀评分较对照组明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。肠道菌群多样性结果显示,治疗组Shannon指数较治疗前升高($P<0.05$)。治疗后各样本在主坐标分析图上经Anosim分析比较差异有统计学意义($P<0.01$),提示两组间物种发生改变。治疗后,治疗组拟杆菌门和梭杆菌门相对丰度上升,放线菌门、疣微菌门和蓝藻菌门等相对丰度下降($P<0.05$),普拉梭菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属、瘤胃球菌属相对丰度明显升高($P<0.05$)。两组患者治疗后与健康人群肠道菌群物种多样性比较,治疗组人群的肠道菌群结构向健康受试者靠近,而对照组无此趋势。治疗组治疗后乙酸、丙酸、丁酸均较治疗前升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 通脑益智方可改善VCIND脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者的认知能力和生活质量,调节肠道微生态可能是其作用机制之一。

[关键词] 非痴呆型血管性认知障碍;脾肾亏虚;痰瘀阻络;认知功能;肠道菌群;短链脂肪酸;通脑益智方

血管性认知障碍是脑血管疾病及其危险因素引起的以认知功能障碍为主要表现的临床综合征。而非痴呆型血管性认知障碍(vascular cognitive impairment no dementia, VCIND)是轻度认知损害向血管

性痴呆发展的过渡阶段,被认为是唯一可预防和控制轻度痴呆,且具有可逆性^[1]。当前VCIND的治疗以控制各种危险因素、治疗血管原发病、胆碱酯酶抑制剂等药物为主,但目前仍没有指南统一推荐的治疗药物,且无明确有效的治疗方法改变痴呆的病程进展。研究^[2-3]发现,肠道菌群可以通过神经、免疫、生化和内分泌等多种途径影响大脑认知功能,调整肠道微生态可能是治疗VCIND的一种潜在方法。中医药可直接调节肠道菌群的数量及组

基金项目:江苏省中医药管理局中医临床医学创新中心研究项目(ZX202101);江苏省卫生健康委员会江苏省中医药科技发展计划、人才项目(RC201901);江苏省财政厅 江苏省科学技术厅 2022 年省科技计划专项资金(重点研发计划社会发展)项目(BE2022818);南京中医药大学自然科学基金(XZR2021007)

✉ 通讯作者:chch1967@163.com

成结构,恢复肠道微生态平衡及其功能,从而改善大脑的认知功能^[4-5]。肠道菌群还能通过影响口服中药在体内的吸收、代谢、转化,进而促进中药发挥疗效^[6-7]。

通脑益智方是南京中医药大学附属医院临床治疗血管性认知障碍的经验方,具有补肾益脾、通瘀泻毒、化痰通络功效^[8]。本团队前期从理论上探讨调节肠道菌群治疗血管性认知障碍的可行性^[9],随后在动物实验中证实通脑益智方能提高血管性认知障碍大鼠的学习记忆能力,其机制可能与调节肠道菌群及其代谢物结构有关^[10]。在此基础上,本研究观察通脑益智方对 VCIND 患者的临床疗效,并以肠道菌群及其代谢物短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)为切入点,探讨通脑益智方的可能作用机制。本研究获得南京中医药大学附属医院伦理委员会批准(伦理批件号:2020NL-104-02)。

1 临床资料

1.1 诊断及辨证标准

VCIND 诊断标准参照《急性缺血性脑卒中的 TOAST 分型标准》^[11]、《血管性认知功能损害的专家共识》^[12]、《2019 年中国血管性认知障碍诊治指南》^[13]拟定:1) 有小动脉闭塞性卒中或腔隙性卒中史;2) 临床痴呆评定量表(CDR)^[14]评分为 0.5 分,蒙特利尔认知评估量表(MoCA)^[15]得分<26 分,Hachinski (HIS) 缺血量表^[16]≥7 分;3) 认知损害被认为是血管性,有突然起病、阶梯样病程、斑片状认知损害的证据;4) 有动脉粥样硬化证据、局灶体征和影像学证据;5) 有血管性危险因素,但不含仅有血管性危险因素而无梗死/缺血体征。

中医诊断及脾肾亏虚、痰瘀阻络证辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[17]及《轻度认知损害临床研究指导原则(草案)》^[18]拟定。主症:思维呆滞、善忘无记、情感改变、语言错乱;次症:腰膝酸软、善惊易恐、头晕头痛、耳鸣脑鸣、纳呆脘胀、神疲乏力、肢体困重、面部发麻、失眠烦躁;舌脉:舌质暗红或紫,或有瘀点、瘀斑,苔薄白或腻,脉沉、弦、细、涩或无力。符合上述主症且具有次症中的任意 2 项及以上者,结合舌脉即可诊断。

1.2 纳入标准

1) 符合上述诊断及辨证标准,年龄 50~80 岁;
2) 患者或监护人对研究意义有正确认识,对研究

人员的观察和评价有良好的合作态度;3) 患者或监护人知情同意,自愿受试并签署同意书。

1.3 排除标准

1) 合并血管炎、静脉及静脉窦血栓形成;2) 合并抑郁症或其他精神障碍;3) 合并可能干扰认知功能评价的疾病,如头部外伤,或其他精神性药物滥用史;4) 有严重神经功能缺损,如上肢偏瘫、各种失语、视听障碍等;5) 合并严重慢性疾病,如原发性心血管疾病、肝脏疾病、肾脏疾病、血液系统疾病、肺脏疾病、糖尿病、消化系统疾病,或其他影响患者生存的严重疾病,如肿瘤或艾滋病等;6) 根据受试者实际情况判断明显不能配合全程治疗和随访;7) 在过去 1 个月内服用过任何抗生素、益生菌、益生元制剂及质子泵抑制剂;8) 当前正在使用改善认知障碍的药物(包括中药和西药)。

1.4 脱落标准

1) 未完成整个临床试验方案;2) 研究过程中主动提出退出研究。

1.5 剔除标准

1) 资料不完整;2) 出现过敏反应或严重不良事件,研究者判断应该停止临床研究;3) 病情急剧加重,或试验过程中出现其他影响研究的病症。

1.6 一般资料

本研究采用非劣效对照设计,非劣效界值 Δ 设定为 2 分(基于简易智能精神状态检查量表(MMSE)评分的临床意义^[19-20]),根据以往研究^[8, 21]预计治疗人群的 MMSE 评分均值差异的标准差为 3.5,以单侧检验水准 0.025、检验效能 0.8 计算,每组需要 51 例受试者。考虑 20% 的退出率,最终每组需至少纳入 63 例受试者。但由于试验开展过程中受新冠病毒感染疫情的影响,导致实际纳入病例数无法达到计划值,考虑到研究时效性,故按照实际纳入例数进行研究与报告。

收集 2020 年 4 月 25 日至 2022 年 12 月 31 日在南京中医药大学附属医院神经内科门诊就诊的 VCIND 患者 92 例,按就诊顺序对患者进行编号,由不参与试验的统计人员按照随机数字表法进行分组,分别为治疗组 50 例,对照组 42 例。将编号对应的随机数字、序号和分组结果装入信封,对随机分组结果进行隐藏。患者拆开信封后根据随机分组结果给予相应的治疗方法。整个过程对统计人员设盲,对研究者和患者不设盲。同期收集 20 例在南京中医药大学附属医院体检中心体检的健康人员粪

便作为参照来提供正常人群肠道菌群结构和短链脂肪酸含量的参考范围,健康受试者均来自南京地区并与 VCIND 患者年龄、性别相匹配,且在过去 1 个月内未使用任何抗生素或者益生菌等生物制剂。表 1 示,两组患者一般资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),具有可比性。

表 1 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者基线资料比较

Table 1 Baseline characteristics of the two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome

项目	治疗组 (50 例)	对照组 (42 例)
性别 (男/女) /例	26/24	25/17
受教育年限<9 年/例 (%)	24 (48.0)	21 (50.00)
每周运动<2 小时/例 (%)	21 (42.0)	20 (47.62)
吸烟史/例 (%)	13 (26.00)	10 (23.81)
饮酒史/例 (%)	18 (36.00)	16 (38.10)
合并其他疾病史/例 (%)		
高血压病	25 (50.00)	20 (47.62)
糖尿病	13 (26.00)	13 (30.95)
心血管病	14 (28.00)	12 (28.57)
年龄/岁, $\bar{x}\pm s$	63.92 $\pm$ 7.96	66.74 $\pm$ 8.55
MoCA/分, $\bar{x}\pm s$	22.20 $\pm$ 3.08	21.86 $\pm$ 2.38
空腹血糖/mm $\text{ol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	6.17 $\pm$ 2.06	6.61 $\pm$ 1.85
血压/mmHg, $\bar{x}\pm s$		
收缩压	144.44 $\pm$ 14.62	145.36 $\pm$ 16.64
舒张压	85.96 $\pm$ 10.42	87.52 $\pm$ 9.21

注: MoCA, 蒙特利尔认知评估量表。

2 方法

2.1 治疗方法

基础治疗: 所有患者根据病情给予常规基础治疗^[13], 包括改善血压、控制血脂、稳定动脉硬化斑块、抗血小板聚集治疗防止血栓形成。同时普及认知损害相关的健康教育。

对照组: 在基础治疗同时加用多奈哌齐片 (安理申, 每片 10 mg, 卫材药业有限公司, 批号: H20050978), 每次 5 mg, 每晚 1 次。

治疗组: 在基础治疗同时加用通脑益智方口服, 药物组成: 水蛭 3 g, 熟大黄 6 g, 炙黄芪 10 g, 川芎 6 g, 郁金 10 g, 石菖蒲 12 g, 益智仁 10 g, 枸杞子 10 g, 仙鹤草 15 g, 中药饮片均由南京中医药大学附属医院中药房提供。每日 1 剂, 水煎分早晚两次口服。两组疗程均为 3 个月。

2.2 观察指标与方法

2.2.1 主要结局指标 1) 于治疗前后分别进行

MMSE 评分^[22], 由受过专业培训的研究人员对患者进行认知水平测试, 每个患者均由同一研究人员评估; 2) 肠道菌群检测: 于治疗前后受试者在医院或家中将粪便样品收集在标准化无菌容器中, 每管收集 2 g 以上中后段的样本。在取样 2 h 以内, 把样本转移至南京中医药大学附属医院中心实验室 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待检测。使用 16S rRNA 高通量测序技术检测粪便标本中的肠道菌群, 并分析肠道内微生物菌群结构, 计算 Observed species、Alpha 和 Beta 多样性指数, 基于分类注释得到功能菌群相对丰度改变, 检测委托苏州帕诺米克生物医药科技有限公司完成。

2.2.2 次要结局指标 1) 于治疗前后分别进行血管性痴呆评估量表 (VaDAS-cog)^[23] 和日常生活能力量表 (ADL)^[24] 评分; 2) 短链脂肪酸 (SCFAs) 检测: 取适量粪便样本于离心管中, 加 50 μl 15% 磷酸 (7664-38-2, 德国 CNW), 再加 125 $\mu\text{g/ml}$ 的内标异己酸 (646-07-1, 德国 sigma) 溶液 100 μl 和乙醚 400 μl 匀浆 1 min, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 12 000 r/min (离心半径 8.6 cm) 离心 10 min, 取上清后使用气相色谱 (Trace 1300, 美国赛默飞) /质谱分析 (ISQ 7000, 美国赛默飞) 检测 SCFAs 水平 (包括乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、异戊酸、戊酸、己酸), SCFAs 检测委托苏州帕诺米克生物医药科技有限公司完成。3) 中医证候评分: 参照血管性痴呆中医辨证量表 (见附表 1, 扫描本文二维码获取) 对两组患者进行评定, 主症包括思维呆滞、善忘无记、性情改变、语言错乱, 次症包括腰膝酸软、头晕头痛、耳鸣时作、神疲乏力、肢体困重、失眠烦躁、纳呆腹胀、面部发麻, 每个症状或体征依据不同程度予以赋分, 累积相加即为中医证候总积分, 分值范围为 0~48 分, 分值越高表示病情越重, 于治疗前后分别记录 1 次。

2.2.3 安全性指标 治疗前后分别对两组患者行肝功能、肾功能、血常规、尿常规和心电图检查, 并在治疗过程中密切观察患者病情, 记录研究期间是否有不良事件出现, 如腹胀、消化不良、头晕头痛、乏力、皮疹等。

2.3 统计学方法

数据分析使用 IBM SPSS 21.0 和 Graphpad Prism 8.3 绘图软件, 计量资料符合正态分布采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料以频率或百分比表示, 组间比较采

用 χ^2 检验。样品的生物信息学分析使用QIIME软件进行, R软件应用于统计学分析和绘图。方差分析、Kruskal-Wallis、线性判别分析(LEfSe)、相似性分析(ANOSIM)和DESeq2差异分析被用来鉴定不同群体和样本之间丰度不同的菌群。冗余分析(Radar data acquisition, RDA)用来探索肠道菌群与SCFAs之间的关联。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。本研究采用符合研究方案(PP)分析, 当某一观察时间点的疗效变量缺失时, 采用最近一次观察数据进行填补。

3 结果

本研究入组92例, 脱落3例。其中治疗组1例治疗第2周时因外出自行停服中药, 对照组1例未按医嘱用药, 1例失访。最终治疗组49例和对照组40例纳入分析。

3.1 两组患者治疗前后MMSE、VaDAS-cog、ADL评分比较

表2示, 与本组治疗前比较, 两组患者治疗后MMSE评分升高、VaDAS-cog评分降低, 治疗组ADL评分升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。两组治疗后MMSE、VaDAS-cog、ADL评分组间比较差异均无

表2 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后MMSE、VaDAS-cog、ADL评分比较

Table 2 Comparison of MMSE, VaDAS-cog, and ADL scores before and after treatment in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	MMSE	VaDAS-cog	ADL
治疗组	治疗前	50	24.15 $\pm$ 2.52	13.05 $\pm$ 4.40	61.73 $\pm$ 10.18
	治疗后	49	26.23 $\pm$ 2.48 ^{a)}	10.80 $\pm$ 3.45 ^{a)}	63.67 $\pm$ 11.45 ^{b)}
对照组	治疗前	42	23.90 $\pm$ 2.81	14.40 $\pm$ 3.66	60.75 $\pm$ 9.84
	治疗后	40	25.50 $\pm$ 2.46 ^{a)}	11.55 $\pm$ 2.84 ^{a)}	61.83 $\pm$ 10.21

注: MMSE, 简易智力状态检查量表; VaDAS-cog, 血管性痴呆评估量表; ADL, 日常生活活动能力量表。

a) 与本组治疗前比较, $P<0.01$; b) 与本组治疗前比较, $P<0.05$ 。

表3 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后中医证候总积分及各项主症评分比较

Table 3 Comparison of total TCM syndrome and primary symptoms scores before and after treatment in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	中医证候总积分	思维呆滞	善忘无记	性情改变	语言错乱
治疗组	治疗前	50	15.90 $\pm$ 3.84	1.86 $\pm$ 1.58	2.81 $\pm$ 1.47	2.16 $\pm$ 1.14	1.39 $\pm$ 1.17
	治疗后	49	9.15 $\pm$ 1.81 ^{a)}	1.22 $\pm$ 1.18 ^{a)}	1.41 $\pm$ 0.93 ^{a)}	1.27 $\pm$ 0.91 ^{a)}	0.69 $\pm$ 0.85 ^{a)}
对照组	治疗前	42	15.65 $\pm$ 2.91	1.40 $\pm$ 1.30	2.65 $\pm$ 1.31	2.10 $\pm$ 0.90	1.15 $\pm$ 1.00
	治疗后	40	8.55 $\pm$ 1.54 ^{a)}	0.45 $\pm$ 0.85 ^{a)}	0.60 $\pm$ 0.93 ^{a)}	0.35 $\pm$ 0.77 ^{a)}	0.75 $\pm$ 1.17 ^{a)}

注: a) 与本组治疗前比较, $P<0.01$ 。

统计学意义($P>0.05$)。

3.2 两组患者治疗前后中医证候评分比较

表3、表4示, 两组患者治疗后中医证候总积分及思维呆滞、善忘无记、性情改变、语言错乱、肢体困重、失眠烦躁、纳呆腹胀、面部发麻评分均较本组治疗前明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 治疗组治疗后腰膝酸软、耳鸣时作、神疲乏力评分亦较治疗前明显降低($P<0.01$); 两组治疗后头晕头痛评分比较差异无统计学意义($P>0.05$)。两组患者治疗后组间比较, 治疗组腰膝酸软、耳鸣时作、神疲乏力、肢体困重、失眠烦躁、纳呆腹胀评分较对照组明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3.3 两组患者治疗前后肠道菌群检测结果

3.3.1 两组患者治疗前后肠道菌群Alpha多样性分析比较 表5示, 与本组治疗前比较, 治疗组治疗后Shannon指数显著升高($P<0.05$), 而对照组治疗后Shannon指数差异无统计学意义($P>0.05$)。两组患者治疗前后Observed species指数、Chao1指数、Simpson指数差异均无统计学意义($P>0.05$)。

3.3.2 两组患者治疗前后肠道菌群Beta多样性分析比较 图1示, 两组患者治疗前各样本在主坐标分析图上(PCoA)两两之间的距离经Anosim分析比较差异无统计学意义($P>0.05$), 提示两组间物种多样性差异不明显。两组患者治疗后各样本在PCoA图上经Anosim分析比较差异有统计学意义($P<0.01$), 提示两组间物种发生改变。

3.3.3 两组患者治疗前后肠道菌群门水平主要物种相对丰度变化比较 表6示, 与本组治疗前比较, 治疗组治疗后拟杆菌门和梭杆菌门相对丰度上升, 放线菌门、疣微菌门和蓝藻菌门相对丰度下降($P<0.05$), 而厚壁菌门及变形菌门相对丰度差异无统计学意义($P>0.05$)。对照组各菌门治疗后与治疗前比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。两组患者治疗后组间比较, 治疗组拟杆菌门和梭杆菌门相对丰度上升, 对照组蓝藻菌门相对丰度上升

表4 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后各项次症评分比较

Table 4 Comparison of secondary symptoms scores before and after treatment in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome (分, $\bar{x}\pm s$)						
组别	时间	例数	腰膝酸软	头晕头痛	耳鸣时作	神疲乏力
治疗组	治疗前	50	1.71 $\pm$ 0.76	0.90 $\pm$ 0.87	0.98 $\pm$ 0.97	0.86 $\pm$ 0.89
	治疗后	49	0.65 $\pm$ 0.89 ^{a) c)}	0.71 $\pm$ 0.74	0.69 $\pm$ 0.55 ^{a) c)}	0.43 $\pm$ 0.50 ^{a) d)}
对照组	治疗前	42	1.08 $\pm$ 0.92	0.85 $\pm$ 0.80	0.50 $\pm$ 0.75	0.95 $\pm$ 0.88
	治疗后	40	0.96 $\pm$ 0.71	0.88 $\pm$ 0.85	0.73 $\pm$ 0.78	0.93 $\pm$ 0.80
组别	时间	例数	肢体困重	失眠烦躁	纳呆脘胀	面部发麻
治疗组	治疗前	49	0.47 $\pm$ 0.68	1.24 $\pm$ 0.95	0.88 $\pm$ 0.86	0.71 $\pm$ 0.84
	治疗后	49	0.29 $\pm$ 0.46 ^{b) d)}	0.65 $\pm$ 0.56 ^{a) d)}	0.35 $\pm$ 0.48 ^{a) c)}	0.45 $\pm$ 0.54 ^{a)}
对照组	治疗前	40	1.25 $\pm$ 1.01	1.75 $\pm$ 0.95	1.15 $\pm$ 1.00	0.98 $\pm$ 0.95
	治疗后	40	0.78 $\pm$ 0.66 ^{a)}	0.88 $\pm$ 0.69 ^{b)}	0.75 $\pm$ 0.63 ^{a)}	0.73 $\pm$ 0.75 ^{a)}

注: a) 与本组治疗前比较, $P<0.01$; b) 与本组治疗前比较, $P<0.05$; c) 与对照组治疗后比较, $P<0.01$; d) 与对照组治疗后比较, $P<0.05$ 。

表5 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后肠道菌群 Alpha 多样性分析比较

Table 5 Comparison of Alpha diversity of gut microflora in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome ($\bar{x}\pm s$)						
组别	时间	例数	Observed species 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
治疗组	治疗前	50	1769.83 $\pm$ 359.36	2004.43 $\pm$ 339.39	7.27 $\pm$ 0.72	0.96 $\pm$ 0.029
	治疗后	49	1937.20 $\pm$ 620.14	2192.06 $\pm$ 695.26	8.07 $\pm$ 0.81 ^{a)}	0.96 $\pm$ 0.034
对照组	治疗前	42	1972.98 $\pm$ 719.03	2098.70 $\pm$ 756.01	7.32 $\pm$ 1.48	0.94 $\pm$ 0.073
	治疗后	40	1770.49 $\pm$ 550.58	1976.96 $\pm$ 554.46	7.46 $\pm$ 0.94	0.96 $\pm$ 0.028

注: 与本组治疗前比较, a) $P<0.01$ 。

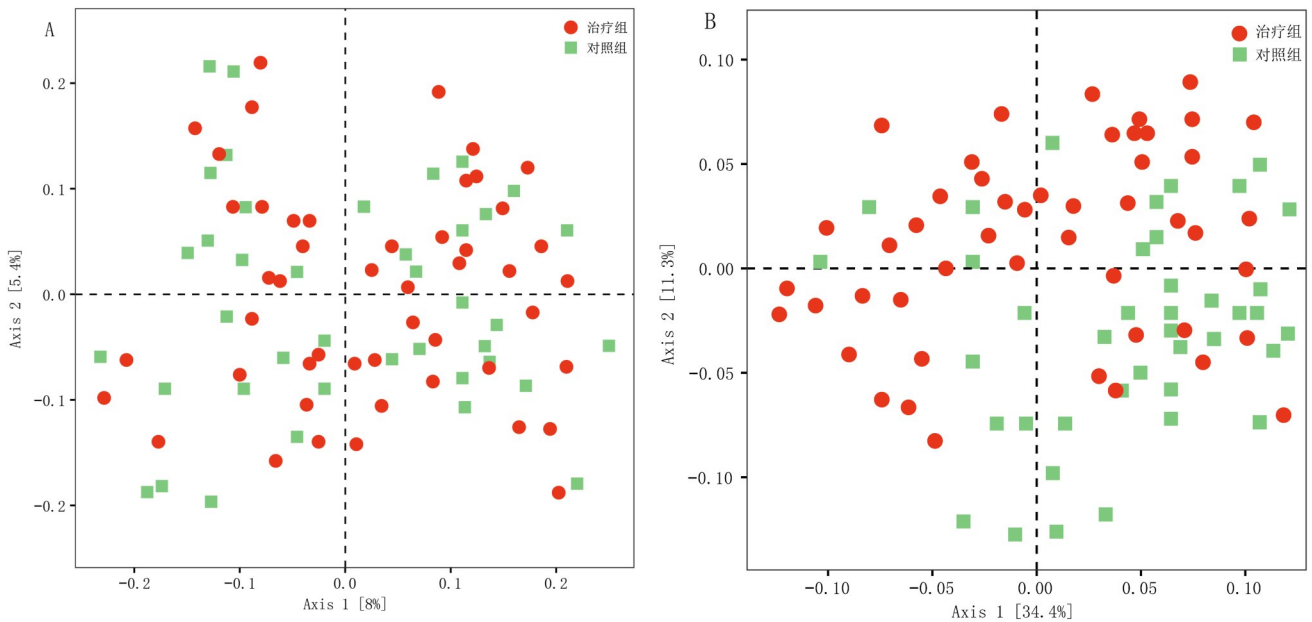


图1 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后肠道菌群PCoA分析结果

Figure 1 PCoA analysis of gut microflora before and after treatment in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome

($P<0.05$), 其余肠道菌群门相对丰度差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3.3.4 两组患者治疗前后肠道菌群属水平主要物种变化比较 图2示, 两组患者治疗后与治疗前比较, 治疗组普拉梭菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属、瘤胃球菌属丰度明显升高 ($P<0.05$); 对照组普拉梭菌属丰度明显升高 ($P<0.05$), 乳酸杆菌属丰度明显下降 ($P<0.01$)。

表6 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后肠道菌群门水平物种相对丰度变化比较

Table 6 Comparison of relative abundance of species at the phylum level of gut microflora in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome (% , $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	厚壁菌门	拟杆菌门	放线菌门	变形菌门	疣微菌门	梭杆菌门	蓝藻菌门
治疗组	治疗前	50	79.60±15.60	9.74±6.35	7.55±2.75	4.98±1.60	1.49±1.20	0.41±0.32	0.24±0.11
	治疗后	49	75.69±16.86	12.51±4.65 ^{a) c)}	3.48±1.37 ^{a)}	2.98±0.97	0.15±0.08 ^{a)}	2.34±2.18 ^{b) d)}	0.01±0.03 ^{b)}
对照组	治疗前	42	76.71±16.77	8.64±6.35	7.57±6.13	4.66±1.60	1.19±0.06	0.53±0.42	0.14±0.31
	治疗后	40	77.39±16.08	9.61±9.46	5.53±4.34	2.43±0.93	1.05±0.08	0.44±0.39	0.26±0.48 ^{d)}

注：a) 与本组治疗前比较， $P<0.05$ ；b) 与本组治疗前比较， $P<0.01$ ；c) 与对照组治疗后比较， $P<0.05$ ；d) 与对照组治疗后比较， $P<0.01$ 。

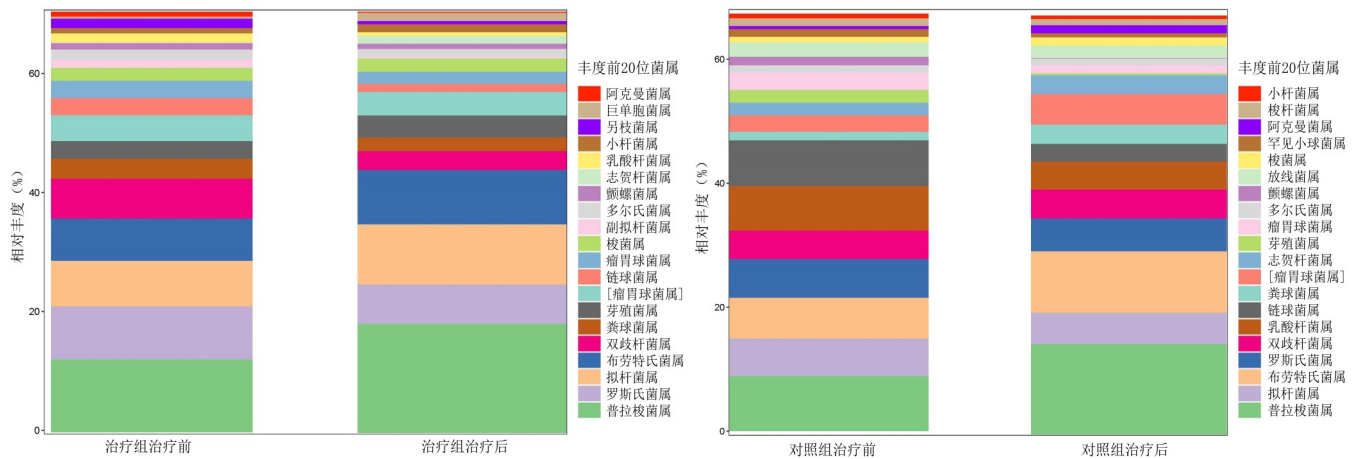


图2 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后肠道菌群属水平主要物种变化比较（前20）

Figure 2 Comparison of the main species changes of the gut microflora genera in the two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome (top 20)

3.3.5 两组患者治疗后与健康受试者肠道菌群的多样性分析比较 图3示，对照组样本多数分布在第四象限，而治疗组和健康人群的样本主要分布在第一、二、三象限。结合 Anosim 分析，提示治疗组与健康人群比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)，对照组与健康人群比较差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

3.4 两组患者治疗前后粪便中 SCFAs 水平比较

表7示，与本组治疗前比较，治疗组治疗后乙酸、丙酸、丁酸水平均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，而异丁酸、异戊酸、戊酸、己酸水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)；对照组乙酸、丙酸、丁酸、异

丁酸、异戊酸、戊酸、己酸水平治疗前后差异无统计学意义 ($P>0.05$)。两组治疗后组间比较，治疗组乙酸及丁酸较对照组升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3.5 两组患者肠道菌群与 SCFAs 关联性分析

表8示，通过冗余分析两组粪便中 SCFAs 水平与菌群的关联性。结果显示，在属水平上，乙酸与罗氏菌属、粪球菌属、普拉梭菌和瘤胃球菌属等呈正相关，与梭状杆菌属和放线菌属呈负相关 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；丙酸与罗氏菌属、普拉梭菌属、布劳特菌属和双歧杆菌属等呈正相关 ($P<0.05$ 或

表7 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗前后粪便中 SCFAs 水平比较

Table 7 Comparison of fecal SCFAs levels in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome ($\mu\text{g/g}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	乙酸	丙酸	异丁酸	丁酸	异戊酸	戊酸	己酸
治疗组	治疗前	50	1390.19±828.25	656.90±434.03	138.66±65.41	618.87±399.17	127.53±72.06	147.13±102.87	12.27±4.73
	治疗后	49	2128.05±788.23 ^{a) c)}	1091.35±693.32 ^{b)}	131.96±81.58	984.41±602.12 ^{b) d)}	141.55±96.30	153.99±118.73	14.49±5.88
对照组	治疗前	42	1696.10±626.34	971.02±570.81	114.93±63.20	623.66±392.31	114.59±74.17	120.47±107.76	15.75±7.86
	治疗后	40	1850.75±701.63	951.81±526.34	90.48±49.50	756.47±484.23	87.01±55.82	126.48±83.24	25.38±8.64

注：SCFAs，短链脂肪酸。

a) 与本组治疗前比较， $P<0.01$ ；b) 与本组治疗前比较， $P<0.05$ ；c) 与对照组治疗后比较， $P<0.01$ ；d) 与对照组治疗后比较， $P<0.05$ 。

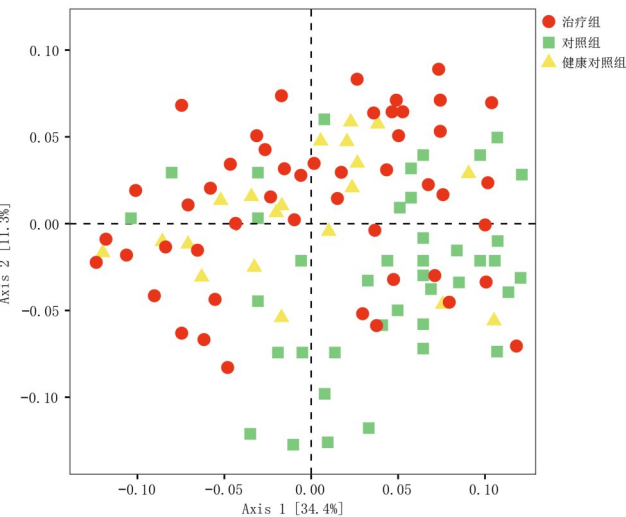


图3 两组非痴呆型血管性认知障碍脾肾亏虚、痰瘀阻络证患者治疗后与健康受试者肠道菌群PCoA分析
Figure 3 PCoA analysis of gut microflora in two groups of vascular cognitive impairment, no dementia patients with spleen and kidney depletion and phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome

$P<0.01$); 丁酸与罗氏菌属、粪球菌属、普拉梭菌、瘤胃球菌属、乳杆菌属和双歧杆菌属等呈正相关, 与梭状杆菌属和放线菌属呈负相关 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表8 肠道菌群与SCFAs关联系数 r 值表
Table 8 Correlation coefficient (r) from comparison of gut microflora with SCFAs

菌属/SCFAs	乙酸	丙酸	丁酸
罗氏菌属	0.582 ^{b)}	0.505 ^{b)}	0.513 ^{b)}
粪球菌属	0.229 ^{a)}	0.105	0.274 ^{a)}
普拉梭菌属	0.418 ^{b)}	0.291 ^{a)}	0.478 ^{b)}
瘤胃球菌属	0.263 ^{a)}	0.144	0.375 ^{b)}
布劳特氏菌属	0.120	0.385 ^{b)}	0.243
乳杆菌属	0.117	-0.148	0.226 ^{a)}
双歧杆菌属	0.177	0.262 ^{a)}	0.255 ^{a)}
梭状杆菌属	-0.445 ^{b)}	0.173	-0.338 ^{b)}
放线菌属	-0.565 ^{b)}	-0.215	-0.464 ^{b)}

注: SCFAs, 短链脂肪酸。
a) $P<0.05$; b) $P<0.01$; 表格数值为交叉对应的关联系数值, 正数代表正相关, 负数代表负相关。

3.6 两组患者安全性指标比较

治疗组2例患者出现腹泻症状, 未经干预后自然好转。对照组2例患者出现夜晚恶梦增多, 进行心理疏导后好转; 1例患者出现失眠, 进行睡眠卫生教育后好转。两组患者治疗前后肝功能、肾功能、血常规、尿常规和心电图检查均未见明显异

常, 余未见明显不良事件发生。

4 讨论

VCIND可归属于中医学“健忘”“痴呆”等范畴, 其病位在脑, 与心、肝、脾、肾均有关, 为本虚标实之证, 以肾虚为本, 痰瘀火毒内阻上扰清窍为标^[25-26]。现代医学提出了“肠-脑轴”的概念, 指出肠道健康在大脑生理、病理中发挥重要作用^[3], 而中医学则以“脑肠相通”理论阐述脑肠关系^[27]。通脑益智方是在符为民教授经验方脑络通方^[28]的基础上加入益智仁、仙鹤草化裁而成。方中益智仁暖肾益精, 枸杞子滋养肝肾、填精充脑髓以治本, 二者共为君药。水蛭破血、逐瘀、通络, 熟大黄通腑泄浊祛毒、理气活血, 二者共为臣药。仙鹤草消痞散瘀, 川芎为血中之气药, 能“上行巅顶, 下达血海”, 郁金辛开苦降, 凉血破瘀, 三者活血通络、行气解郁, 共为佐药。炙黄芪甘温, 补气行血, 石菖蒲豁痰开窍, 二者共为使药。该方补益肾精、泻毒活血, 标本兼治, 使神机得用。本研究采用非劣效比较设计, 多奈哌齐是目前治疗血管性认知障碍患者的一线药物^[29], 故选择多奈哌齐片作为阳性对照药。

本研究结果显示, 两组患者治疗后MMSE、VaDAS-cog评分及中医证候总积分均较治疗前有显著改善, 证明通脑益智方和多奈哌齐均可改善VCIND患者认知功能水平, 但两组间比较无明显差异。两组患者经治疗后, 治疗组患者ADL评分较治疗前有升高, 提示通脑益智方能够改善VCIND患者的日常活动能力, 但与对照组比较无明显差异。此外, 两组患者治疗后中医证候总积分虽无明显差异, 但经通脑益智方治疗后, 治疗组患者的部分次症如腰膝酸软、耳鸣时作、神疲乏力和失眠烦躁等均有明显改善, 且优于对照组, 患者生活质量显著提升。

肠道菌群结果显示, 经Alpha和Beta分析显示两组患者治疗前肠道菌群在结构和丰度上差异较小, 具有可比性。治疗后治疗组患者肠道菌群Shannon指数升高, 与其他研究结果^[30]一致, 而对照组无明显变化, 这表明通脑益智方对VCIND患者肠道菌群结构造成影响, 使得肠道菌群多样性提高。肠道微生态平衡是整个“脑-肠”轴正常运行的关键, 离不开肠道菌群发挥正常生理功能。肠道内各种菌群在发展中呈现一种对立但又相互依存的关系, 有益菌和致病菌相互影响, 并随着宿主身体

的情况存在此消彼长现象,肠道菌群与免疫系统之间就是这种平衡的具象化,二者之间平衡才能有健康的肠道微生态和免疫系统^[31]。本研究结果发现,在菌群门水平上,治疗组经治疗后拟杆菌门丰度上升、蓝藻菌门丰度显著下降,菌门失衡纠正,而在对照组未发现明显菌门改变。肠道菌群中厚壁菌门的主要功能是水解碳水化合物和蛋白质,而拟杆菌门主要作用于类固醇、多糖和胆汁酸,有助于机体对多糖的吸收和蛋白质的合成,二者保持相对的平衡丰度才能让人体保持健康的代谢功能^[32]。蓝藻菌门属于有害菌,蓝藻菌门可以产生包括神经毒素、肝毒素等,蓝藻菌门释放的神经毒素 β -N-甲基-L-丙氨酸可以促使神经元凋亡,造成神经系统造成损伤^[33]。

在属水平上,经通脑益智方治疗后 VCIND 患者肠道益生菌群属的相对丰度较治疗前明显上升,如普拉梭菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属、瘤胃球菌属;而对照组在治疗后乳酸杆菌属的丰度有所下降。普拉梭菌属是一种新型益生菌,是乙酸和丁酸的重要生产者之一。普拉梭菌属数量的变化可能是肠道菌群紊乱的迹象,它具有强大的抗炎能力,且能够减少机体内活性氧的生成降低氧化应激的状态^[34]。既往研究报道,瘤胃球菌与肠道通透性有密切联系,瘤胃球菌属的丰度与肠道通透性的增加呈显著负相关^[35]。卒中后认知障碍患者肠道内的瘤胃球菌属的丰度明显低于正常人群^[36],这与本研究结果相一致。肠道中瘤胃球菌属的丰度减少会增加肠道内的炎症发生风险,而肠道炎症可能会破坏肠黏膜屏障,导致内毒素、肿瘤坏死因子等有害分子进入血液循环系统损害健康^[37]。

此外,本研究还发现经通脑益智方治疗后的 VCIND 患者,粪便中的肠道菌群代谢物 SCFAs 较治疗前有明显变化,尤其是乙酸、丙酸、丁酸的含量明显增加,治疗组患者肠道内产丁酸菌群增加。研究^[38]表明,丁酸对改善代谢性疾病、心血管疾病、神经退行性疾病等具有重要作用。另有研究证实,SCFAs 可通过干预核转录因子 κ B(NF- κ B)通路降低促炎因子水平,从而抑制肠道炎症^[39]。SCFAs 能够通过调控小胶质细胞、神经营养因子、血脑屏障、神经炎症及神经元凋亡等,影响脑卒中后认知障碍的发展过程^[40-41]。

综上所述,与多奈哌齐片相比通脑益智方具有非劣效性,在改善 VCIND 患者的认知能力和生活质量方面表现突出,通脑益智方可能通过调节肠道

微生态以实现其改善认知功能的作用。本研究存在一定局限性,首先,研究对象主要集中在南京地区,结论或许因为地区饮食习惯不同而有所差异,可能存在选择性偏倚;其次,本研究样本量较少,观察时间有限,也未采用双盲设计。因此,在下一步研究中,我们将完善研究设计,寻求跨地区多中心合作,深入研究不同中医证型与血管性认知障碍患者肠道菌群的联系,为通脑益智方的临床应用提供更多研究数据。

参考文献

- [1]O'BRIEN JT, THOMAS A. Vascular dementia [J]. Lancet, 2015,386(10004):1698-1706.
- [2]MORAIS LH, SCHREIBER HT, MAZMANIAN SK. The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders [J]. Nat Rev Microbiol, 2021,19(4):241-255.
- [3]CRYAN JF, O'RIORDAN KJ, COWAN C, et al. The microbiota-gut-brain axis [J]. Physiol Rev, 2019,99(4):1877-2013.
- [4]于岚,邢志凯,米双利,等. 中药对肠道菌群的调节作用 [J]. 中国中药杂志, 2019,44(1):34-39.
- [5]张韬,赵磊,战锐,等. 中医药干预神经退行性疾病引起的认知功能障碍的分子机制(英文) [J]. 生物化学与生物物理进展, 2020,47(8):729-742.
- [6]陈润泽,李鹏飞,胡雨奇,等. 肠道菌群在中药代谢中的作用 [J]. 中国微生态学杂志, 2018,30(8):990-993.
- [7]祖先鹏,林璋,谢海胜,等. 中药有效成分与肠道菌群相互作用的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016,41(10):1766-1772.
- [8]姜文秀. 通脑益智颗粒改善血管性认知障碍患者血清 A β 1-42 和 NPY 浓度的临床研究 [D]. 南京:南京中医药大学, 2018.
- [9]骆守真,郑艳,常诚. 基于肠道菌群调节理论探讨从脾胃论治血管性认知障碍 [J]. 长春中医药大学学报, 2021,37(4):905-908.
- [10]刘怀峻,颜习武,张秋池,等. 通脑益智颗粒联合粪菌移植对血管性认知障碍大鼠学习记忆能力和肠道菌群的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2022,31(20):2786-2792.
- [11]王志宏,韩仲岩. 急性缺血性脑卒中的 TOAST 分型标准 [J]. 临床神经病学杂志, 2007,19(5):392.
- [12]血管性认知功能损害专家共识组. 血管性认知功能损害的专家共识 [J]. 中华内科杂志, 2007,46(12):1052-1055.
- [13]中国医师协会神经内科分会认知障碍专业委员会. 2019 年中国血管性认知障碍诊治指南 [J]. 中华医学杂志, 2019,99(35):2737-2744.

- [14]杨渊韩,贾建军,JOHN MORRIS. 临床痴呆评估量表的应用[J]. 中华老年医学杂志, 2018, 37(4):369-371.
- [15]LU J, LI D, LI F, et al. Montreal cognitive assessment in detecting cognitive impairment in Chinese elderly individuals: a population-based study[J]. J Geriatr Psychiatry Neurol, 2011, 24(4):184-190.
- [16]JOHNSON LA, CUSHING B, ROHLFING G, et al. The Hachinski ischemic scale and cognition: the influence of ethnicity[J]. Age ageing, 2014, 43(3): 364-369.
- [17]郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002:91-98.
- [18]田金洲, 时晶, 张新卿, 等. 轻度认知损害临床研究指导原则(草案)[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(1): 9-14.
- [19]WATTMO C, MINTHON L, WALLIN ÅK. Mild versus moderate stages of Alzheimer's disease: three-year outcomes in a routine clinical setting of cholinesterase inhibitor therapy [J]. Alzheimer's Research & Therapy, 2016, 8(1):7.
- [20]SPALLETTA G, CALTAGIRONE C, PADOVANI A, et al. Cognitive and affective changes in mild to moderate Alzheimer's disease patients undergoing switch of cholinesterase inhibitors: a 6-month observational study [J]. PLoS ONE, 2014, 9(2):1-9.
- [21]颜习武, 孟婷, 刘金凤, 等. 潜阳育阴颗粒早期介入延缓高血压认知障碍患者脑白质病变的临床研究[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(4):291-297.
- [22]LI H, JIA J, YANG Z. Mini-mental state examination in elderly chinese: a population-based normative study[J]. J Alzheimers Dis, 2016, 53(2):487-496.
- [23]SACHDEV P, KALARIA R, O'BRIEN J, et al. Diagnostic criteria for vascular cognitive disorders: a VASCOG statement[J]. Alzheimer Dis Assoc Disord, 2014, 28(3): 206-218.
- [24]DESAI AK, GROSSBERG GT, SHETH DN. Activities of daily living in patients with dementia: clinical relevance, methods of assessment and effects of treatment [J]. CNS Drugs, 2004, 18(13):853-875.
- [25]王凌雪, 李双阳, 梁岚, 等. 血管性认知障碍的中西医结合治疗进展[J]. 实用中医内科杂志, 2020, 34(3): 90-94.
- [26]吴宏帅, 方小敏, 常诚. 基于 Logistic 回归分析血管性认知障碍中医证型与认知域及危险因素的相关性[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6):814-819.
- [27]张思超. “脑肠相通”假说及意义[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(6):6-7.
- [28]常诚, 方小敏, 姜亚军, 等. 脑络通颗粒结合认知训练治疗轻中度血管性认知障碍社区应用研究[J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(6):531-533.
- [29]胡爱萍, 阮传亮. 卒中后认知障碍的中西医治疗研究进展[J]. 中国医药导刊, 2023, 25(8):868-872.
- [30]LIU P, WU L, PENG G, ET AL. Altered microbiomes distinguish Alzheimer's disease from amnesic mild cognitive impairment and health in a Chinese cohort[J]. Brain Behav Immun, 2019, 80:633-643. doi: 10.1016/j.bbi.2019.05.008.
- [31]HOU K, WU ZX, CHEN XY, et al. Microbiota in health and diseases [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 1-28.
- [32]PARKER BJ, WEARSCH PA, VELOO A, et al. The genus Alistipes: gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health [J]. Front Immunol, 2020, 11: 522172. doi: 10.3389/fimmu.2020.00906.
- [33]OKAMOTO S, ESUMI S, HAMAGUCHI-HAMADA K, et al. beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) suppresses cell cycle progression of non-neuronal cells[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):17995.
- [34]FERREIRA-HALDER CV, FARIA A, ANDRADE SS. Action and function of Faecalibacterium prausnitzii in health and disease[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2017, 31(6):643-648.
- [35]LECLERCQ S, MATAMOROS S, CANI PD, et al. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(42):E4485-E4493.
- [36]冯荣建, 余茜, 李怡, 等. 卒中后认知功能障碍患者肠道菌群紊乱特征研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2021, 52(6):966-974.
- [37]WIGG AJ, ROBERTS-THOMSON IC, DYMOCK RB, et al. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis[J]. Gut, 2001, 48(2):206-211.
- [38]BRIDGEMAN SC, NORTHROP W, MELTON PE, et al. Butyrate generated by gut microbiota and its therapeutic role in metabolic syndrome[J]. Pharmacol Res, 2020, 160:105174. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105174.
- [39]JING Y, YU Y, BAI F, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on neurological restoration in a spinal cord injury mouse model: involvement of brain-gut axis [J]. Microbiome, 2021, 9(1):59-80.
- [40]LIU Y, KONG C, GONG L, et al. The association of post-stroke cognitive impairment and gut microbiota and its corresponding metabolites [J]. J Alzheimers Dis,

2020, 73(4):1455–1466.

[41]刘环环, 李瑞青, 苏凯奇, 等. 短链脂肪酸对脑卒中

的保护作用机制及其与脑卒中后认知障碍关系的研究进展[J]. 中国全科医学, 2022, 25(3):380–386.

Effect of *Tongnao Yizhi Formula* (通脑益智方) on Cognitive Function and Gut Microflora in Treating Vascular Cognitive Impairment No Dementia Patients with Spleen and Kidney Depletion, Phlegm and Stasis Obstructing Collaterals SyndromeYAN Xiwu¹, KANG Jiaoyang², MENG Ting², LIU Jinfeng², LAI Yinglong², ZHU Yiwei², CHANG Cheng¹

1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210029; 2. First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine

ABSTRACT **Objective** To observe the clinical efficacy and mechanism of *Tongnao Yizhi Formula* (通脑益智方, TYF) in treating vascular cognitive impairment no dementia (VCIND) with spleen and kidney depletion, phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome. **Methods** Ninety-two VCIND patients with spleen and kidney depletion, phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome were randomly divided into control group (42 cases) and treatment group (52 cases). Both groups received routine basic treatment. The control group was given donapezil hydrochloride capsules orally, 5 mg each time, once at night, while the treatment group was given TYF orally, 1 dose per day. Both groups were treated continuously for 3 months. The scores of Mini-Mental State Examination (MMSE), Vascular Dementia Assessment Scale-Cognitive Subscale (VaDAS-Cog), Activity of Daily Living Scale (ADL), and TCM syndrome scores (the primary symptoms such as sluggish thinking, forgetfulness, temperament changes, and language confusion, and secondary symptoms such as weakness of waist and knees, dizziness and headache, occasional tinnitus, fatigue, heaviness of limbs, insomnia and irritability, poor appetite and abdominal distension, numbness of face) were observed before and after treatment in both groups. The changes in gut microflora diversity and flora abundance structure as well as fecal short-chain fatty acids (SCFAs) levels including acetic acid, propionic acid, butyric acid, isobutyric acid, isovaleric acid, valeric acid, and caproic acid were compared between groups. The feces of 20 healthy subjects in the same period were included as reference. Safety was evaluated during the study. **Results** After treatment, both groups exhibited significant increases in MMSE scores and decreases in VaDAS-cog scores ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and ADL scores in the treatment group significantly increased ($P < 0.05$). Scores of symptoms including sluggish thinking, forgetfulness, temperament change, language confusion, heaviness of limbs, insomnia, irritability, poor appetite, abdominal distension, and facial numbness as well as the total score significantly decreased in both groups after treatment ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). When compared between groups, the treatment group showed substantial reductions in scores of weakness of waist and knees, tinnitus, fatigue, heaviness of limbs, insomnia, irritability, loss of appetite and abdominal distension ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The gut microflora diversity analysis showed that the Shannon index of the treatment group significantly increased after treatment ($P < 0.05$). PCoA analysis and ANOSIM test indicated significant differences between groups, suggesting changes in microflora species ($P < 0.01$). After treatment, the relative abundance of Bacteroidetes and Fusobacteria in the treatment group increased, while the relative abundance of Actinobacteria, Verrucomicrobia and Cyanobacteria decreased ($P < 0.05$); the relative abundance of Faecalibacterium prausnitzii, Bifidobacterium, Lactobacillus, and Ruminococcus increased significantly ($P < 0.05$). Compared to the the gut microflora species diversity of the healthy people, it is indicated that the gut microflora structure in the treatment group was close to that of the healthy people, while there was no such trend in the control group. In the treatment group, acetic acid, propionic acid, and butyric acid in the treatment group were all higher after treatment ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusions** TYF can improve the cognitive ability and quality of life of VCIND patients with spleen and kidney depletion, phlegm and stasis obstructing collaterals syndrome, and this improvement may be related to regulating intestinal microecology.

Keywords vascular cognitive impairment no dementia; spleen and kidney depletion; phlegm and stasis obstructing the collaterals; cognitive function; gut microflora; short-chain fatty acids; *Tongnao Yizhi Formula* (通脑益智方)

(收稿日期: 2023-09-11; 修回日期: 2024-04-20)

[编辑: 叶 晨]