

网络出版时间:2023-10-09 08:51:08 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20230929.1227.007

基于脑-肠轴探讨电针与双歧杆菌对单纯性肥胖大鼠肠源性信号物质及脂代谢的影响

颀媛媛,钱虹宇,谢顺铠,许婧

摘要 **目的** 观察电针与双歧杆菌对单纯性肥胖大鼠生存状态、肠源性信号物质水平及脂代谢的影响,并比较其优效性。**方法** 购入体质量40~60 g范围内的4周龄SPF级SD大鼠60只,10只(雌雄各半)予普通饲料设为空白组,50只(雌雄各半)予高脂饲料制备单纯性肥胖大鼠模型,8周后高脂组造模成功的30只肥胖大鼠随机分为肥胖模型组、电针组、双歧杆菌组,每组10只(雌雄各半),治疗组分别予电针、双歧杆菌溶液灌胃治疗4周,实验期间固定时间称取大鼠体质量;治疗周期结束后采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测肥胖大鼠5-羟色胺(5-HT)、组胺(HIS)水平;采用银染色法检测肠嗜铬细胞(ECC)水平;采用生化法检测三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)水平。**结果** 干预后,电针组与双歧杆菌组较模型组大鼠体质量、结肠ECC、结肠与下丘脑5-HT、HIS、血清TC、TG、LDL水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),血清HDL水平虽升高,但差异无统计学意义,且电针组较双歧杆菌组各指标更接近于空白组。**结论** 电针对单纯性肥胖大鼠疗效优于双歧杆菌。电针可能是通过调整单纯性肥胖大鼠肠源性信号物质刺激下丘脑机体做出反应减少摄食、加快脂代谢,减缓肥胖。

关键词 脑-肠轴;电针;双歧杆菌;单纯性肥胖;肠源性信号物质;脂代谢

中图分类号 R 245.31

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)11-1841-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.11.007

肥胖病是由于体内摄入大于消耗,造成脂肪堆积和(或)分布异常,进而导致体质量增加的慢性疾病,是造成2型糖尿病和各种心血管疾病发生的危险因素^[1]。至2016年,全球18岁以上(含18岁)的人群接近20亿人超重,且其中约1/3系肥胖^[2]。目前针对肥胖的疗法多样,但疗效存在参差,而针灸

治疗肥胖疗效确切,安全性高,专家推荐意见为A(证据极有效)^[3]。

中医理论强调整体观,以藏象理论为基础,认为脑肠二者之间在生理及病理方面密切相关^[4]。脑-肠轴是中枢系统和胃肠道系统构成的双向信号传导系统^[5]。中枢神经系统是脑-肠轴负反馈调节的核心,整合并向外周组织发出脑部及胃肠道传达的信号胃肠道系统接收信号,共同调节能量平衡从而达到控制体质量的目的^[6]。该实验研究通过对比电针与双歧杆菌对单纯性肥胖大鼠生存状态、肠源性信号物质[肠嗜铬细胞(enterochromaffin cell, ECC)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、组胺(histamine, HIS)]水平、血脂[三酰甘油(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein LDL)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)]水平等的影响,验证电针疗法的优效性。

1 材料与方法

1.1 实验动物 购入体质量在40~60 g范围内的4周龄SPF级SD大鼠60只(雌雄各半)。实验动物均来自于成都达硕实验动物有限公司,喂养条件为12 h明暗交替,室温22~25℃,湿度40%~70%。动物购入后适应性喂养1周,期间饲以基础饲料,自由摄食饮水。

1.2 主要试剂与仪器 ELISA试剂盒购自武汉Elabscience公司;六胺银染液套装购自武汉Service-bio公司;生化试剂盒购自深圳Mindray公司;双歧杆菌三联活菌胶囊购自晋城海斯制药有限公司(国药准字S19993065);G6850-II型电针仪购自上海华谊医用仪器有限公司;电子天平购自上海越平科学仪器(苏州)制造有限公司;台式高速冷冻离心机、涡旋混合器、台式高速微量离心机购自美国赛洛捷克公司;数显气浴恒温振荡器购自常熟朗越仪器制造有限公司;全自动生化分析仪购自深圳迈瑞医疗器械有限公司。

1.3 模型制备及分组

2023-06-14 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81774440)

作者单位:成都中医药大学美容教研室,成都 610075

作者简介:颀媛媛,女,硕士研究生;

许婧,女,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: xujing8059@163.com

1.3.1 模型制备 适应性喂养结束后,按照随机原则,将大鼠按 1~60 编号,采用随机数字法进行初次分组,其中 50 只为高脂组,给予高脂饲料(配方:每 200 g 普通大鼠饲料中添加猪油 50 g,白糖 150 g,奶粉 20 g,鸡蛋 1 个)进行喂养,其余 10 只为普食组,给予普通饲料(配方:水分 94 g/kg、蛋白质 190 g/kg、脂肪 51 g/kg、粗纤维 36 g/kg、灰分 62 g/kg、钙 11.3 g/kg、磷 8.6 g/kg),造模期间大鼠自由摄食饮水,待高脂组体质量大于普食组体质量 20% 者定为单纯性肥胖大鼠^[7]。

1.3.2 分组 饲养 8 周后,造模成功 30 只(雌雄各半),将其随机二次分组分为模型组、电针组、双歧杆菌组,每组 10 只(雌雄各半);普食组的 10 只(雌雄各半)作为空白组。

1.4 干预措施

1.4.1 空白组 继续饲以普通饲料,与电针组同法捆绑固定,7 g/kg 生理盐水灌胃,1 次/天,6 次/周。

1.4.2 模型组 继续饲以高脂饲料,与电针组同法捆绑固定,7 g/kg 生理盐水灌胃,1 次/天,6 次/周。

1.4.3 电针组 继续饲以高脂饲料,选取双侧天枢、丰隆,穴位定位参照《实验针灸学》^[8]的动物穴位图谱。将该组大鼠以仰卧位固定在鼠台上,露出其腹部与后肢。将治疗穴位 2 cm × 2 cm 面积区域的毛发剃除干净,并酒精棉球对电针穴位进行消毒;使用针灸针刺入皮下 25 mm 左右,以平补平泻法运针约 1 min 后,连接电针治疗仪,选用频率为 2 Hz,强度为 1.5 V 的连续波,观察大鼠下肢及针柄变化,以轻微节律抽搐为度,留针 30 min,7 g/kg 生理盐水灌胃 1 次/天,6 次/周,两侧穴位交替治疗。

1.4.4 双歧杆菌组 继续饲以高脂饲料,与电针组同法捆绑固定,双歧杆菌溶液灌胃治疗。双歧杆菌三联活菌胶囊用生理盐水以 100 mg/ml 配制,现配现用,7 g/kg 灌胃^[9],1 次/天,6 次/周。

1.5 取材及检测

1.5.1 取材 治疗结束后,大鼠禁食不禁水 12 h,以 1% 戊巴比妥钠(30 ml/kg)予腹腔注射麻醉后,开腹收集大鼠腹主动脉血液 4 ml 左右,1 500 r/min 4 °C 离心 15 min,使用移液枪将上层血清移至 EP 管中,−80 °C 保存备用;另外,迅速取出结肠组织、下丘脑组织等样本,置于液氮中备用。

1.5.2 体质量检测 固定每周一上午 9:00 测量大鼠体质量、摄食量并记录。

1.5.3 ELISA 检测 5-HT、HIS 等指标采用 ELISA 法测定。结肠、下丘脑组织标本研磨匀浆取上清液

待用,提前 20 min 取出试剂盒和样本,平衡至室温;配制所需要的试剂及工作液;微孔板法测定各指标水平。

1.5.4 银染色检测 通过对结肠组织标本石蜡切片脱蜡至水、媒染剂染色、工作液配制、组织酸化、孵育染色、显色、六胺银染液处理、复染、脱水封片、显微镜镜检等程序测定结肠 ECC 阳性细胞水平。

1.5.5 生化检测 通过对血清标本 BCA 定量处理之后采用生化仪对 TC、TG、LDL、HDL 水平进行检测。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 27.0 及 GraphPad Prism 9.0 分析软件进行统计及绘图。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异性比较运用 One-way ANOVA 检验,当方差齐时使用 LSD 进行事后比较,方差不齐时使用 Hotelling T2 进行事后比较,不同指标的相关分析采用皮尔逊相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠生存状态 造模前各组大鼠活动度、毛发光泽度均较正常;造模后,除空白组外,其余各组大鼠活动度、毛发光泽度降低;治疗结束后,各治疗组大鼠活动度、毛发光泽度好转。

2.2 各组大鼠体质量 造模前,各组大鼠体质量差异无统计学意义;干预前,与空白组比较,其他各组大鼠体质量升高($P < 0.05$),模型组、电针组、双歧杆菌组体质量比较差异无统计学意义;干预后,与空白组比较,模型组体质量升高($P < 0.05$);与模型组比较,电针组与双歧杆菌组体质量明显降低($P < 0.05$),差异有统计学意义,电针组较双歧杆菌组体质量降低明显。见表 1。

表 1 各组大鼠干预前后体质量($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	体质量(g)		
	造模前	干预前	干预后
空白	72.91 ± 4.18	232.74 ± 22.11	286.74 ± 42.09
模型	75.30 ± 4.66	303.91 ± 40.22 *	380.16 ± 39.95 *
电针	73.77 ± 5.52	306.36 ± 38.25 *	323.09 ± 61.10 ^{#△}
双歧杆菌	73.65 ± 5.11	304.98 ± 45.60 *	329.21 ± 46.34 [#]
F 值	0.16	12.27	6.96

与空白组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与双歧杆菌组比较: [△] $P < 0.05$

2.3 各组大鼠摄食量 干预前,各组大鼠摄食量差异无统计学意义($F = 1.48, P > 0.05$);干预后,与模

型组比较,电针组与双歧杆菌组摄食量下降,差异有统计学意义($F = 89.32, P < 0.05$),且电针组较双歧杆菌组摄入量下降明显。见图1。

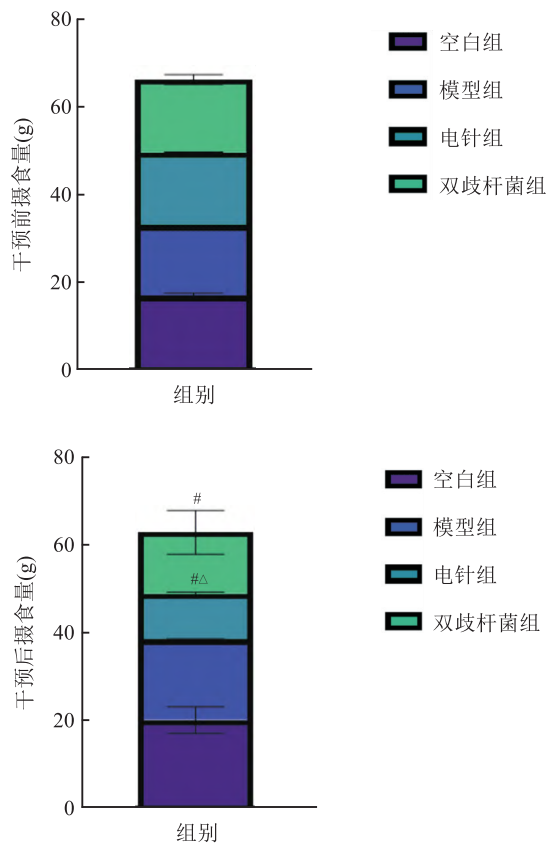


图1 各组大鼠干预前后摄食量比较
与模型组比较: $^{\#}P < 0.05$; 与双歧杆菌组比较: $^{\Delta}P < 0.05$

2.4 各组大鼠肠源性信号物质

2.4.1 各组大鼠结肠 ECC 阳性细胞水平 干预后,与空白组比较,模型组大鼠结肠 ECC 阳性细胞水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,电针组、双歧杆菌组大鼠结肠 ECC 阳性细胞水平降低($P < 0.05$),且电针组较双歧杆菌组降低明显,差异有统计学意义。各组大鼠干预后结肠 ECC 阳性细胞水平方差分析 $F = 366.35$ 。见图2、3。

2.4.2 各组大鼠结肠与下丘脑 5-HT、HIS 水平 干预后,与空白组比较,模型组大鼠结肠及下丘脑中 5-HT、HIS 升高($P < 0.05$);与模型组比较,电针组、双歧杆菌组大鼠结肠及下丘脑中 5-HT、HIS 降低($P < 0.05$),且电针组相关指标较双歧杆菌组降低明显,差异有统计学意义。各组大鼠干预后结肠和下丘脑 5-HT 水平方差分析 $F = 2\,933.36、807.78$;结肠和下丘脑 HIS 水平方差分析 $F = 826.19、103.66$ 。

皮尔逊相关性检验显示结肠中 ECC 水平与 5-HT、HIS 在 0.01 级别(双尾)相关性显著,相关系数 r 值为 0.85、0.98。见图4、5。

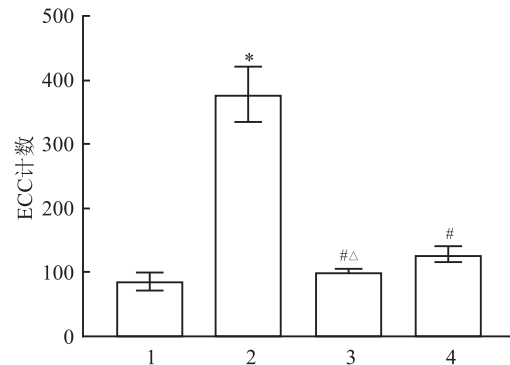


图2 各组大鼠干预后结肠 ECC 阳性细胞水平

1:空白组;2:模型组;3:电针组;4:双歧杆菌组;与空白组比较:
 $^*P < 0.05$;与模型组比较: $^{\#}P < 0.05$;与双歧杆菌组比较: $^{\Delta}P < 0.05$

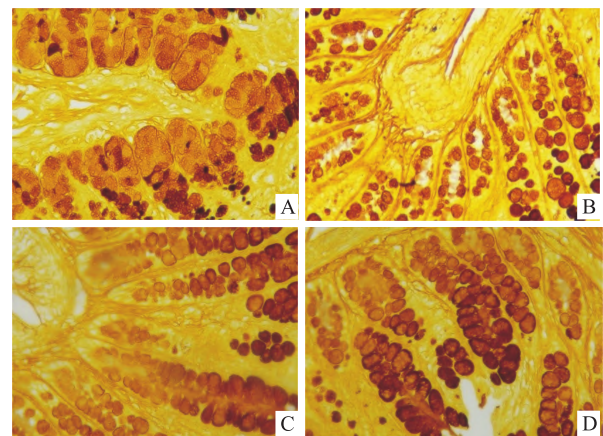


图3 各组大鼠结肠 ECC 银染色照片 $\times 400$

A 空白组;B 模型组;C 电针组;D 双歧杆菌组;图中褐色物质为结肠 ECC 阳性细胞

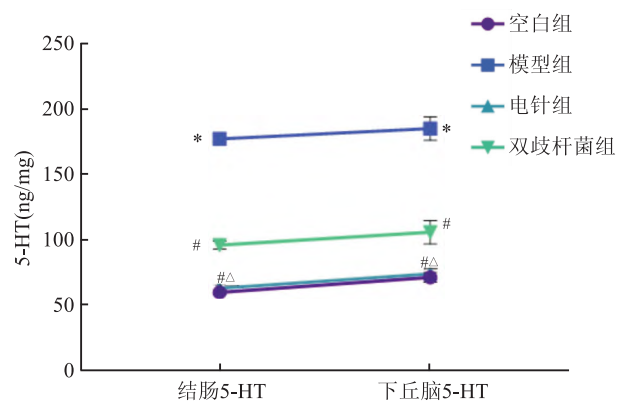


图4 各组大鼠干预后结肠与下丘脑 5-HT 水平

与空白组比较: $^*P < 0.05$;与模型组比较: $^{\#}P < 0.05$;与双歧杆菌组比较: $^{\Delta}P < 0.05$

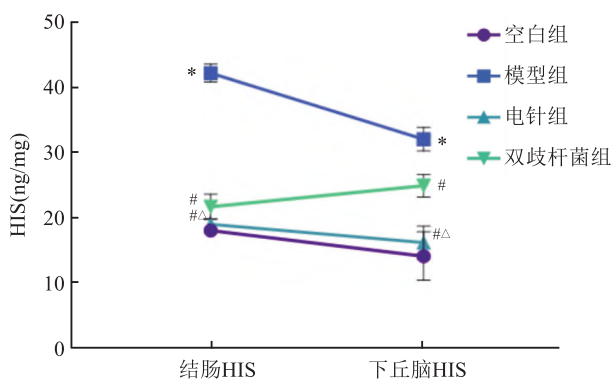


图5 各组大鼠干预后结肠与下丘脑HIS水平

与空白组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与双歧杆菌组比较: Δ $P < 0.05$

2.5 各组大鼠血脂水平 干预后,与空白组比较,模型组大鼠血清TC、TG、LDL水平升高,HDL水平降低($P < 0.05$);与模型组比较,电针组血清TC、TG、LDL水平降低($P < 0.05$),差异有统计学意义,HDL水平虽升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),双歧杆菌组干预后血清TC、TG水平降低($P < 0.05$),差异有统计学意义,LDL、HDL水平虽有改变,但差异无统计学意义($P > 0.05$),且电针组较双歧杆菌组的血脂相关指标更接近空白组。各组大鼠干预后TC、TG、LDL、HDL水平方差分析 $F = 4.59$ 、 3.78 、 2.50 、 1.64 。见图6。

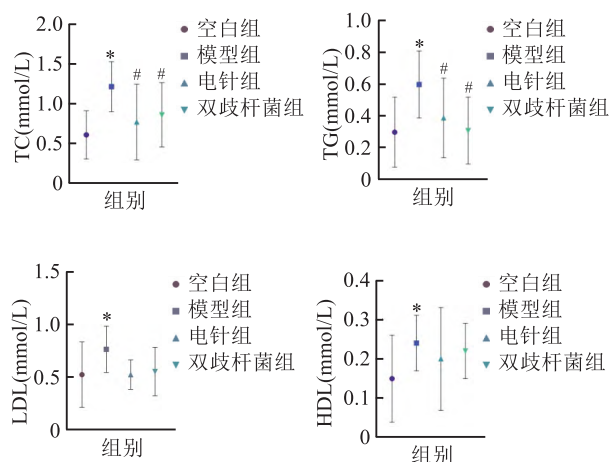


图6 各组大鼠干预后血脂水平

与空白组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

3 讨论

研究^[10]表明电针治疗高脂饮食诱导的肥胖疗效确切,具有安全性高、价格低廉,患者接受度高等特点。腧穴是电针的施术部位,准确选穴是电针取

效的关键之一。有研究^[11]显示在治疗肥胖的腧穴处方配伍规律中,天枢穴和丰隆穴是针灸治疗肥胖的有效腧穴配伍。天枢穴和丰隆穴均是足阳明胃经腧穴,天枢穴是大肠经的募穴,位于人体上下之气交合处,为升清降浊之枢纽;丰隆穴是胃经的络穴,一络通两经,属阳而络阴,二者结合使用可健脾和胃,调和肠胃,调畅中焦。双歧杆菌是放线菌门中最主要的一种有益菌,对肠道功能甚至机体的平衡都有很大的影响,但其作为一种活性菌,不便于储存,且长期服用可能会导致肠道产生依赖性而使机体本身的菌群失活。该实验选择高脂饮食诱导的肥胖大鼠模型是因其与人类肥胖类型相似,具有较高的研究价值。课题组前期研究表明针灸可以对机体的基础代谢活动起到良性调节,加速脂肪代谢,还可抑制胃肠活动,降低食欲和营养物质的吸收,调节肠道微生物的物种丰度。该实验研究基于脑-肠轴,以肠内分泌系统的信号中转和传递为切入点,观察显示长期高糖高油饮食可诱导健康大鼠肠源性信号物质的变化并通过脑-肠轴向中枢递呈,使之自下而上刺激下丘脑对机体作出反应,大鼠摄食增加,代谢减缓,发生肥胖。电针和双歧杆菌疗法均可改善因高脂饮食诱导的肥胖状态,提高肥胖大鼠的生存水平,且电针的治疗效应与双歧杆菌相比在调整相关肠源性信号物质水平刺激下丘脑控制摄食方面优势明显,可加快脂代谢,减轻体质量,是治疗肥胖的优势手段。针灸治疗疾病强调整体观,其起效机制具有多层面、多环节、多靶点的特点,现代研究也表明针灸疗法对肥胖患者的代谢水平、胃肠道系统等多个机体系统具有调节作用,而当前多数开展的研究切入点较散在,探索针灸治疗肥胖的整体效应机制将会成为更进一步的目标,有助于为针灸治疗肥胖提供有力的研究证据支持。

该实验研究尚存在一些不足,如实验设计时未加入假电针组进行对比研究、仅做了观察性的研究未进行深层次的机制研究等,导致结果较局限。需要在后续工作中加以深入研究。

参考文献

- [1] 祝之明. 肥胖与心血管病变——从流行病学到发病机制[J]. 中国糖尿病杂志, 2006(6): 402-4.
- [2] Compare D, Rocco A, Sanduzzi Zamparelli M, et al. The gut bacteria-driven obesity development[J]. Dig Dis, 2016, 34(3): 221-9.
- [3] 肥胖症中医诊疗方案专家共识[J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(8): 786-94.

- [4] 林露敏, 刘启鸿, 柯 晓, 等. 基于“脑-肠-菌”轴探讨功能性便秘与中医“脑肠相通”理论的关系[J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(1): 1-3.
- [5] 龚雪娜, 贾 婷, 张 浩, 等. 肠脑轴参与动物食欲的调节机制[J]. 生命的化学, 2021, 41(1): 61-7.
- [6] Clemmensen C, Muller T D, Woods S C, et al. Gut-brain cross-talk in metabolic control[J]. *Cell*, 2017, 168(5): 758-74.
- [7] 陈主初. 实验动物学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2001.
- [8] 余曙光. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2014.
- [9] 崔 翔, 邢宇锋, 何堂清, 等. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌干预 NASH 模型大鼠代谢性炎症的实验研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2021, 31(7): 625-8.
- [10] Fang S, Wang M, Zheng Y, et al. Acupuncture and lifestyle modification treatment for obesity: a meta-analysis[J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(2): 239-54.
- [11] 金 京, 史之焯, 黄前前, 等. 基于数据挖掘技术分析针灸治疗单纯性肥胖的选穴规律[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(6): 2472-80.

To investigate the effects of electroacupuncture and bifidobacterium on intestinal signaling substances and lipid metabolism in rats with simple obesity based on brain-gut axis

Xie Yuanyuan, Qian Hongyu, Xie Shunkai, Xu Jing

(Dept of Cosmetology, ChengDu University of TCM, Chengdu 610075)

Abstract Objective To observe the effects of electroacupuncture and bifidobacterium on the survival state, the level of intestinal signaling substances and lipid metabolism levels in rats with simple obesity, and to compare their efficacy. **Methods** Sixty 4-week-old SPF SD rats with the body weight ranging from 40 to 60 g were purchased, 10 (half male and half female) were given ordinary diet as blank group, and 50 (half male and half female) were given high fat diet to prepare simple obese rat model. After 8 weeks, 30 obese rats successfully established in high fat group were randomly divided into obesity model group, electroacupuncture group and bifidus group, with 10 rats in each group (half male and half female). The treatment group was treated with electroacupuncture and bifidobacterium solution for 4 weeks, respectively, and the body mass of the rats was measured at a fixed time during the experiment. After the treatment cycle, the level of enterochromaffin cell(ECC) in colon was detected by silver staining, the levels of 5-hydroxytryptamine(5-HT), histamine(HIS) in obese rats were detected by ELISA, the levels of total cholesterol(TC), triglyceride(TG), low density lipoprotein(LDL) and high density lipoprotein(HDL) were detected by biochemical method. **Results** After intervention, compared with model group, body weight, colon and hypothalamus 5-HT, HIS, colon ECC, serum TC, TG and LDL levels decreased in electroacupuncture group and bifidobacterium group, with statistical significance ($P < 0.05$), although the serum HDL levels were increased, the difference was not statistically significant. And the indexes of the electroacupuncture group were more similar to those of the blank group than those of the bifidobacterium group. **Conclusion** The effect of electrotherapy on simple obesity rats is better than bifidobacterium. Electroacupuncture may stimulate the hypothalamus to reduce food intake, accelerate lipid metabolism and slow down obesity by adjusting the intestinal signaling substances in rats with simple obesity.

Key words brain-gut axis; electroacupuncture; bifidobacterium; simple obesity; intestinal signaling substance; lipid metabolism