



硫酸亚铁对缺铁性贫血小鼠肠道健康的影响

楚福英^{1,2}, 王淼^{1,2}, 李元敬⁴, 张彦龙^{1,2}, 雷虹^{1,2*}, 冯磊^{1,3*}

- 1 黑龙江大学 农业微生物技术教育部工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150500
- 2 黑龙江大学生命科学学院 黑龙江省寒地生态修复与资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150080
- 3 黑龙江省林业科学院科研处, 黑龙江 哈尔滨 150081
- 4 华南师范大学汕尾校区材料与新能源学院, 广东 汕尾 516600

楚福英, 王淼, 李元敬, 张彦龙, 雷虹, 冯磊. 硫酸亚铁对缺铁性贫血小鼠肠道健康的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(2): 623-637.

CHU Fuying, WANG Miao, LI Yuanjing, ZHANG Yanlong, LEI Hong, FENG Lei. Effect of ferrous sulfate on intestinal health of mice with iron deficiency anemia[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(2): 623-637.

摘要:【目的】旨在探究硫酸亚铁(FeSO_4)对缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA)小鼠肠道健康的影响。【方法】选取 45 只 24 日龄体重(16.0 ± 1.2) g 的雄性昆明小鼠, 随机分成 3 组, 每组 15 只, 即对照组(正常饲料, 饮蒸馏水)、IDA 组(低铁饲料造模 2 周, 饮去离子水)、IDA- Fe^{2+} 组(造模结束后灌胃 FeSO_4 3 周, 饮去离子水), 实验结束时采样。【结果】试验结束时, 与 IDA 组相比, IDA- Fe^{2+} 组小鼠的红细胞、血红蛋白、红细胞压积、平均红细胞体积、平均红细胞血红蛋白量、平均红细胞血红蛋白浓度等贫血指标均恢复至正常水平($P > 0.05$), 表明 FeSO_4 具有改善 IDA 的功能; 与对照组相比, IDA 和 IDA- Fe^{2+} 组小鼠的氧化应激指标和肿瘤坏死因子 α 均显著升高($P < 0.01$)、紧密连接蛋白 Occludin 显著降低($P < 0.001$), IDA- Fe^{2+} 组与 IDA 组除结肠总抗氧化能力(TAC)外均无差异显著性($P > 0.05$)。结肠组织 HE 染色结果表明: 与对照组相比, IDA 组小鼠的结肠组织黏膜层萎缩, 黏膜层上皮细胞排列缺损, 固有层萎缩。灌胃 FeSO_4 3 周后, 观察到 IDA- Fe^{2+} 组小鼠黏膜层上皮细胞排列仍有缺损, 黏膜层腺泡部分存在坏死与缺损, 固有层萎缩。对粪便微生物群进行的 Illumina MiSeq 高通量测序结果表明, IDA 会导致小鼠肠道菌群紊乱, 菌群多样性指数显著改变(Shannon、Chao1、Ace 和 Simpson 指数, $P < 0.05$); 灌胃 FeSO_4 后, 相较于 IDA 组, IDA- Fe^{2+} 组

资助项目: 黑龙江省自然科学基金(c2015023); 黑龙江省森林工业总局科技计划(sgzjY2015016); 黑龙江大学横向课题(17016); “三区”科技人才项目

This work was supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (c2015023), the Science and Technology Project of Heilongjiang Forest Industry General Administration (sgzjY2015016), the Horizontal Topics of Heilongjiang University (17016), and the “Three Districts” Science and Technology Talent Project.

*Corresponding authors. E-mail: LEI Hong, leihong@hlju.edu.cn; FENG Lei, lkykjc@126.com

Received: 2022-06-01; Accepted: 2022-08-14; Published online: 2022-08-29

小鼠菌群多样性指数显著增加、肠道菌群的整体结构显著改善($P<0.05$); 在门水平上, *Bacteroidetes* 显著降低($P<0.05$), *Verrucomicrobia* 显著升高($P<0.01$), 均恢复至正常水平; 在属水平上, 改变了主要优势菌属的丰度, 有益菌 *Akkermansia*、*Coprobacter* 丰度显著增加($P<0.05$), 致病菌 *Parabacteroides* 丰度显著降低($P<0.01$)。【结论】 FeSO_4 可以通过改善 IDA 小鼠的血液指标来缓解 IDA 症状, 但对 IDA 小鼠的结肠氧化应激指标、炎症指标和结肠组织病变情况没有改善作用。补充 FeSO_4 可以增加 IDA 小鼠肠道菌群多样性和优势菌群丰度, 使有益菌丰度增加, 致病菌丰度降低。

关键词: 缺铁性贫血; 氧化应激; 肠道菌群

Effect of ferrous sulfate on intestinal health of mice with iron deficiency anemia

CHU Fuying^{1,2}, WANG Miao^{1,2}, LI Yuanjing⁴, ZHANG Yanlong^{1,2}, LEI Hong^{1,2*}, FENG Lei^{1,3*}

1 Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology, Ministry of Education, Heilongjiang University, Harbin 150500, Heilongjiang, China

2 Heilongjiang Key Laboratory of Ecological Restoration and Resource Utilization for Cold Region, School of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang, China

3 Scientific Research Department of Heilongjiang Academy of Forestry, Harbin 150081, Heilongjiang, China

4 School of Materials and New Energy, Shanwei Campus, South China Normal University, Shanwei 516600, Guangdong, China

Abstract: [Objective] To explore the effect of ferrous sulfate (FeSO_4) on the intestinal health of iron deficiency anemia (IDA) mice. **[Methods]** A total of 45 24-day-old male Kunming mice with initial body weight of (16.0 ± 1.2) g were randomized into 3 groups (15 in each): control group (normal diet, distilled water), IDA group (low-iron diet for 2 weeks for modeling, deionized water), and IDA- Fe^{2+} group (after modeling, gavage with FeSO_4 for 3 weeks, deionized water). Sampling performed at the end of the experiment. **[Results]** Anemia indexes of mice in IDA- Fe^{2+} group, such as erythrocyte, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), returned to normal levels compared with those in the IDA group ($P>0.05$), indicating that FeSO_4 can alleviate IDA. Compared with the control group, IDA and IDA- Fe^{2+} groups had high levels of oxidative stress indexes and tumor necrosis factor α ($P<0.01$) and low level of Occludin ($P<0.001$). The indexes, except for the total antioxidant capacity (TAC), were insignificantly different between the IDA- Fe^{2+} and IDA groups ($P>0.05$). As for the hematoxylin and eosin (HE) staining results of colon tissue, the IDA group showed atrophy of colonic mucosa, defective arrangement of epithelial cells in mucosa, and atrophy of lamina propria. After intragastric administration of FeSO_4 for 3 weeks, IDA- Fe^{2+} group still demonstrated defective arrangement of epithelial cells in the mucosa, necrotic and defective acini of mucosa, and atrophy of lamina propria. According to the results of Illumina MiSeq high-throughput sequencing of fecal microbiota, IDA could lead to the disorder of intestinal

microflora and the variation of diversity indexes (Shannon, Chao1, Ace, and Simpson indexes) of intestinal flora ($P < 0.05$). IDA-Fe²⁺ group showed significant increase in diversity indexes of the flora and improvement of the overall structure of intestinal flora as compared with the IDA group ($P < 0.05$). To be specific, at the phylum level, the abundance of *Bacteroidetes* decreased ($P < 0.05$) and that of *Verrucomicrobia* increased ($P < 0.01$), both returning to the normal levels. At the genus level, the abundance of the dominant genera changed. The abundance of the beneficial *Akkermansia* and *Coprobacter* increased ($P < 0.05$) and that of the pathogenic *Parabacteroides* decreased ($P < 0.01$). **[Conclusion]** FeSO₄ can alleviate IDA symptoms by improving the blood indexes, but fails to improve the oxidative stress indexes, inflammation indexes, and colon tissue pathological changes of IDA mice. However, FeSO₄ can increase the diversity of intestinal flora and the abundance of main dominant flora in IDA mice, raising the abundance of beneficial bacteria and reducing the abundance of pathogenic bacteria.

Keywords: iron deficiency anemia (IDA); oxidative stress; gut microbiota

缺铁, 尤其是缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA), 在发展中国家和工业国家都是一个重要的公共卫生问题。据世界卫生组织统计, 全世界有 20 多亿人患有贫血, 其中 50% 的病例继发于缺铁, 严重影响了人们的身体健康^[1-2]。氧化应激(oxidative stress, OS)是指当内外界给予机体刺激时, 机体代谢发生异常产生大量自由基^[3], 而过量的自由基则会导致结肠氧化损伤^[4]。IDA 是由于体内储存铁缺乏发生的贫血, 其患者会伴有便秘、便秘和血便等临床症状。此外, 它还会带来许多危害, 如 IDA 患者体内产生大量氧自由基, 引起机体抗氧化能力下降, 造成机体氧化应激损伤^[5-6]; IDA 患者还会伴随着结肠下消化道病变等情况的发生^[7]。生物体的肠道是最容易遭受自由基攻击而造成氧化损伤的部位, 研究表明, 机体中氧自由基增多会造成 DNA 氧化损伤, 发生结肠癌^[8]。

补铁治疗是治疗 IDA 的主要方法, 且以 FeSO₄ 为代表的铁补充剂是目前治疗 IDA 的主要方法^[9-11], 许多国家的药品和食品添加剂相关法规允许硫酸亚铁作为铁补充剂^[12]。然而, FeSO₄ 治疗 IDA 虽然有效, 但经常在胃肠道中产生副作用, 例如恶心、呕吐、便秘和腹泻等^[9]。

因此, 探究 FeSO₄ 在治疗 IDA 的过程中对宿主肠道健康的影响至关重要。

人类胃肠道系统中定居着大量肠道菌群, 其对宿主的生长发育是不可或缺的, 并且可以对肠道健康产生多方面的影响^[13-14]。研究表明, 肠道菌群失衡与肠道氧化应激之间存在重要联系。袁施彬^[15]的研究表明, 乳酸菌能利用自身超氧化物歧化酶来减少和清除自由基, 有效抑制肠道应激反应的发生。潘宝海等^[16]发现肠道内的专性厌氧菌通过分泌乙酸、乳酸等肠道代谢物, 导致肠道 pH 呈酸性从而不利于致病菌生长。此外, 这些厌氧菌代谢产生的丁酸能够促进结肠上皮结构完整。而肠道中的致病菌则会破坏肠道屏障。Shawki 等^[17]用致病性大肠杆菌对 6-8 周龄 C57 BL/6J 系大鼠进行灌胃, 发现结肠上皮细胞的细胞膜结构发生脂质过氧化损伤。研究表明, IDA 会使肠道菌群发生紊乱, 并且低铁条件被认为是导致微生物组成重大变化的原因^[8]。因此, 对 IDA 小鼠肠道健康的深入研究是很有必要的。

本文通过构建 IDA 小鼠模型, 对模型组小鼠灌胃 FeSO₄, 通过分析各组小鼠的结肠氧化应激损伤情况、结肠组织损伤情况、高通量测

序技术分析各组小鼠的粪便微生物群，以探究 FeSO₄ 对 IDA 小鼠肠道健康的影响。

1 材料与方 法

1.1 动物、材料和试剂

1.1.1 动物

实验动物均为 SPF 级 24 日龄昆明种雄性小鼠，体重(16.0±1.2) g，从哈尔滨兽医研究所动物实验中心购买。

1.1.2 材料和试剂

FeSO₄ 购自福建中合医药股份有限公司；小鼠总抗氧化能力检测试剂盒、小鼠脂质过氧化检测试剂盒、小鼠羟自由基检测试剂盒、小鼠超氧阴离子自由基检测试剂盒、小鼠肿瘤坏死因子 α 检测试剂盒和小鼠紧密连接蛋白检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所；小鼠粪便总 DNA 提取试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 仪器和设备

Elx800uv 酶标仪(Gene 公司)；LD15-2A 高速离心机(北京医用离心机厂)；1800i 血细胞自

动分析仪(Sysmex XT)；AB104-N 分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)；101-3A 电热鼓风干燥箱(天津市通利信达仪器厂)；N50 NanoDrop 超微量分光光度计(广州市康珏贸易有限公司)。

1.3 小鼠建模和分组

参照《保健食品检验与评价技术规范实施手册》^[18]中的方法，选取 45 只 24 日龄初始体重(16.0±1.2) g 的昆明种雄性小鼠，随机分成 3 组，每组 15 只，即正常对照组(Control 组)、IDA 组和 IDA-Fe²⁺组(FeSO₄ 治疗组)(图 1)。适应性饲养一周后开始试验。试验期共 42 d: IDA 组、IDA-Fe²⁺组在第 8–21 天进行造模(喂食低铁饲料，去离子水)；IDA-Fe²⁺组在第 22–42 天灌胃 FeSO₄ [浓度为 5 mg/(kg·d)]^[19]，喂食低铁饲料，去离子水；IDA 组灌胃生理盐水；对照组自实验开始一直饲喂正常饲料，饮用蒸馏水。试验采用塑料笼体和非铁质笼盖来避免外源铁污染。每周对各组小鼠进行称重，并做好记录。

1.4 样本采集

最后一次灌胃结束 24 h 后收集各组小鼠粪

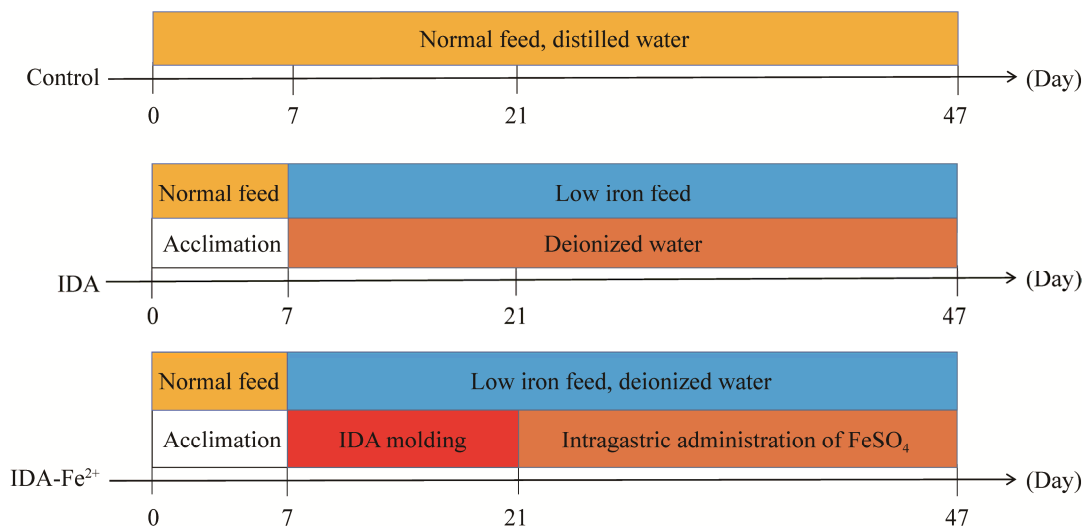


图 1 实验设计

Figure 1 Experimental design.

便, 用于 Illumina MiSeq 高通量测序分析粪便微生物群。试验结束时, 对所有小鼠眼球取血, 每组每只收集 40 μL 血液后加 360 μL 的肝素钠生理盐水溶液, 用于血常规检测。断颈处死小鼠, 迅速取出结肠组织, 一部分在冰浴条件下按 1:4 (质量体积比) 的比例加入 PBS, 离心 (4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min、5 min), 取上清, -80°C 保存, 用于后续氧化应激指标的检测; 另一部分浸泡于中性福尔马林溶液中固定, 用于后续结肠组织 HE 染色分析。

1.5 指标的测定

采用血细胞自动分析仪检测各组小鼠的贫血指标: 血红蛋白(Hb)、红细胞(RBC)、红细胞压积(HCT)和平均红细胞体积(MCV); 严格按照试剂盒说明书检测小鼠结肠氧化应激指标: 结肠总抗氧化能力(TAC)、脂质过氧化(MDA)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$); 结肠炎症相关指标: 结肠组织肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、紧密连接蛋白(occludin)。

1.6 小鼠结肠组织 HE 染色分析

参照王尔胤^[20]的方法, 剪取小鼠 2 cm 长的结肠组织, 冰生理盐水冲洗干净后, 将其放入中性甲醛溶液中, 经固定后的结肠组织制备成石蜡块, 切片, HE 染色后观察结肠组织损伤变化。

1.7 小鼠肠道菌群高通量测序

将每组 15 只小鼠的粪便随机分成 3 个样本, 使用小鼠粪便总 DNA 提取试剂盒并严格按照说明书提取每组小鼠不同粪便样本(0.5 g)的总 DNA, 所提 DNA 的浓度和纯度用 NanoDrop 超微量分光光度计进行检测。使用 338F (5'-AC TCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R (5'-GG ACTACHVGGGTWTCTAAT-3')这 2 种细菌通用引物对 16S rRNA 基因的 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 纯化完成后的扩增产物委托上海美吉生物医药科技有限公司采用 Illumina MiSeq

PE250/PE300 进行 16S rRNA 基因测序工作, 分析鉴定各组样本的菌群特征。

Illumina MiSeq 得到的原始图像数据文件经 CASAVA 碱基识别分析转化为原始测序序列, 结果以 fastq 的文件格式存储。测序得到的 fastq 文件使用 Usearch 软件在 97% 的相似度下进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)聚类分析并使用 Uchime 删除嵌合序列。fastq 文件(原始数据)已上传至 NCBI, biosample_accession 为 SAMN27738346。基于各样本 OTU 相对丰度进行 α 多样性分析来对比各组间微生物多样性的差异, 采用主成分分析(principal component analysis, PCA)和 Venn 图比较各组间的物种分布差异。

1.8 统计学分析

数据采用 Microsoft Excel 和 Origin 2019 软件进行作图, 使用 SPSS 23.0 软件进行组间单因素方差分析检验组间差异显著性; 秩和检验的方法比较分析各组间的物种多样性、物种差异、物种组成。数据表现方式为平均值(Mean) \pm 标准误差(SEM), $P < 0.05$ 代表差异显著。

2 结果与分析

2.1 IDA 小鼠模型的建立

饲喂 2 周低铁饲料和去离子水进行 IDA 造模。造模结果如表 1 所示, 通过测量各组小鼠血常规得出, 与对照组相比, 模型组小鼠的 Hb 含量低至(84.00 \pm 7.61) g/L, RBC、HCT 和 MCV 分别显著下降了 41.34% ($P < 0.01$)、39.03% ($P < 0.001$)、17.06% ($P < 0.001$)。《常用医药研究动物模型》^[21]一书规定的 IDA 判断依据为: Hb \leq 100 g/L、RBC 降低、HCT 和 MCV 减小, 达到以上标准即可诊断为缺铁性贫血。据此, 表明模型组小鼠出现明显的贫血状况, 说明造模成功, 可用于后续实验。

表 1 造模结束时期各组小鼠外周血液常规

Table 1 Peripheral blood routine of mice in each group at the end of modeling period

Group	Hb (g/L)	RBC ($10^{12}/L$)	HCT (%)	MCV (μm^3)
Control	160.33±3.57	10.33±0.27	51.8±1.57	51.7±1.77
IDA	84±7.61***	6.06±0.81**	31.58±1.80***	42.88±2.73***

** and *** respectively indicate the significance of $P<0.01$ and $P<0.001$ levels in the model group compared with the control group.

2.2 FeSO₄ 对 IDA 小鼠血液指标的影响

各组小鼠的血常规结果如图 2 所示。灌胃 FeSO₄ 3 周后, IDA-Fe²⁺组小鼠的 RBC、Hb、HCT、MCV、MCH 和 MCHC 相对于 IDA 组分别显著升高了 40.41% ($P<0.01$)、45.81% ($P<0.001$)、37.03% ($P<0.001$)、14.45% ($P<0.001$)、17.68% ($P<0.01$)、3.08% ($P<0.05$), 与对照组相比已无差异显著性($P>0.05$)。

2.3 FeSO₄ 对 IDA 小鼠结肠氧化应激指标的影响

如图 3 所示, 与对照组相比, IDA 组小鼠

结肠 TAC 显著降低 23.73% ($P<0.001$), MDA、·OH、O₂⁻分别显著升高 69.83% ($P<0.001$)、19.12% ($P<0.01$)、16.92% ($P<0.001$); 当补充 FeSO₄后, IDA-Fe²⁺组小鼠的上述指标均未恢复至正常水平。

2.4 FeSO₄ 对 IDA 小鼠结肠炎症相关指标的影响

如图 4 所示, 与对照组相比, IDA 组小鼠结肠中 TNF- α 显著升高($P<0.001$)、Occludin 显著降低($P<0.001$)。灌胃 FeSO₄ 3 周后, IDA-Fe²⁺组小鼠的 TNF- α 和 Occludin 均未恢复至正常水平。

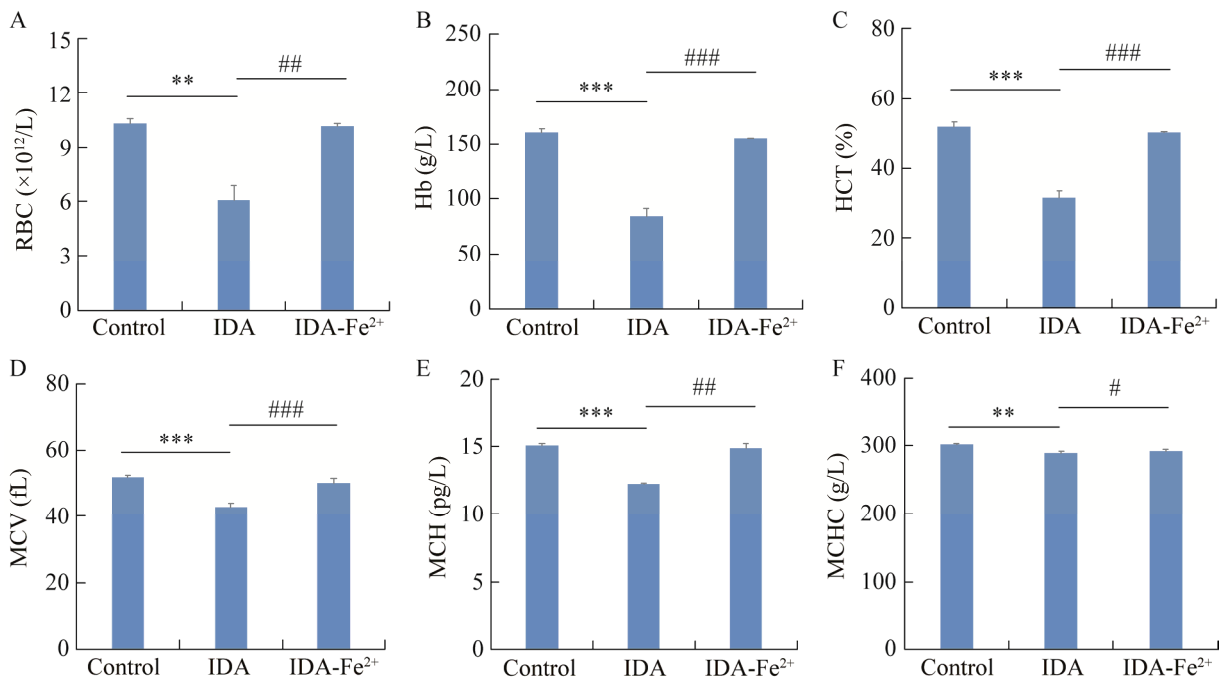
图 2 FeSO₄ 对 IDA 小鼠血象的恢复效果

Figure 2 Recovery effect of FeSO₄ on hemogram of IDA mice. A: RBC. B: Hb. C: HCT. D: MCV. E: MCH. F: MCHC. *, ** and *** respectively indicate the significance of $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$ levels in IDA and IDA-Fe²⁺ groups compared with Control group. #, ## and ### respectively indicate the significance of $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$ levels in IDA-Fe²⁺ group compared with IDA group. The same below.

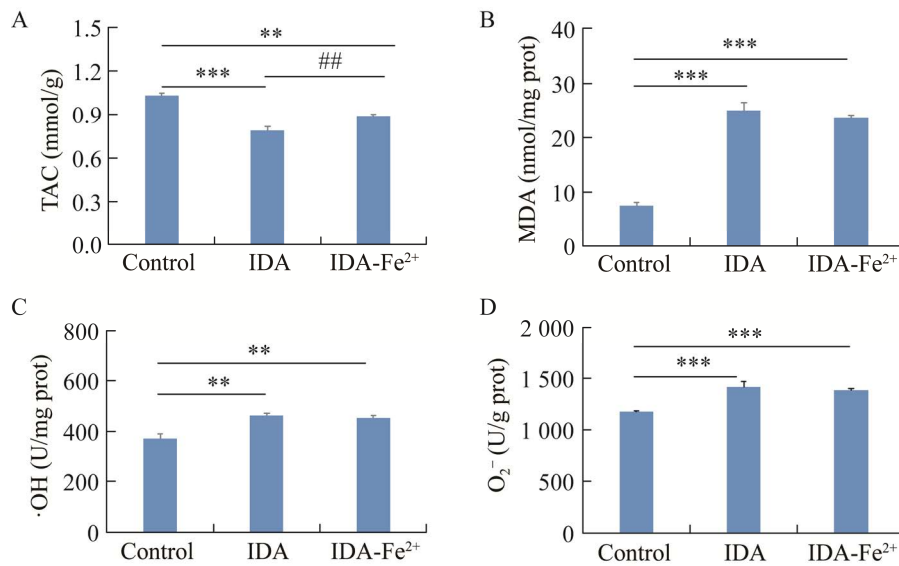


图 3 各组小鼠结肠氧化应激指标

Figure 3 Indicators of oxidative stress in colon of mice in each group. A: TAC. B: MDA. C: ·OH. D: O₂^{·-}.

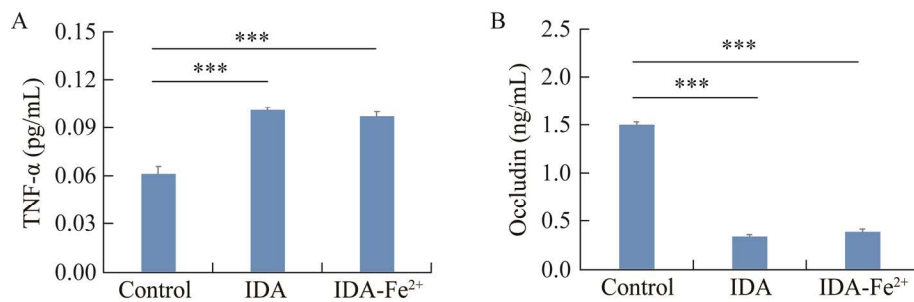


图 4 各组小鼠结肠炎症指标

Figure 4 Indicators of colonic inflammation in mice of each group. A: TNF-α. B: Occludin.

2.5 FeSO₄ 对 IDA 小鼠结肠组织损伤情况的影响

各组小鼠结肠组织 HE 染色结果如图 5 所示, 对照组小鼠结肠组织黏膜层上皮细胞排列整齐, 固有层完整, 黏膜下层组织完整, 肌层肌纤维排列整齐无病变发生。与对照组相比, IDA 组小鼠结肠组织在整体结构上发生了极大的变化, 其中黏膜层萎缩, 黏膜层上皮细胞排列缺损, 固有层萎缩, 黏膜下层、肌层均无病变发生。灌胃 FeSO₄ 3 周后, IDA-Fe²⁺ 组小鼠黏膜层上皮细胞排列缺损、部分腺泡存在坏死与

缺损, 固有层萎缩, 黏膜下层组织完整、肌层肌纤维排列整齐且无病变发生。

2.6 FeSO₄ 对 IDA 小鼠肠道菌群多样性的影响

如图 6 所示, 与对照组相比, IDA 组小鼠的 Shannon 指数($P < 0.01$)、Ace 指数($P < 0.01$)和 Chao1 指数($P < 0.05$)均显著降低; IDA-Fe²⁺ 组小鼠的上述指数与对照组相比已无差异显著性($P > 0.05$); 相反, IDA 组小鼠的 Simpson 指数显著升高($P < 0.01$), 补充 FeSO₄ 后, IDA-Fe²⁺ 的 Simpson 指数显著降低($P < 0.01$)。PCA 分析(图 7A)

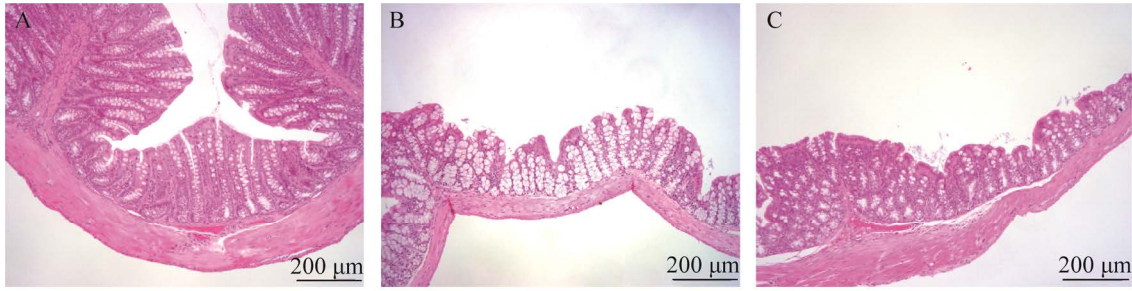


图 5 各组小鼠结肠组织形态

Figure 5 Histomorphology of colon of mice in each group. A: Control. B: IDA. C: IDA-Fe²⁺.

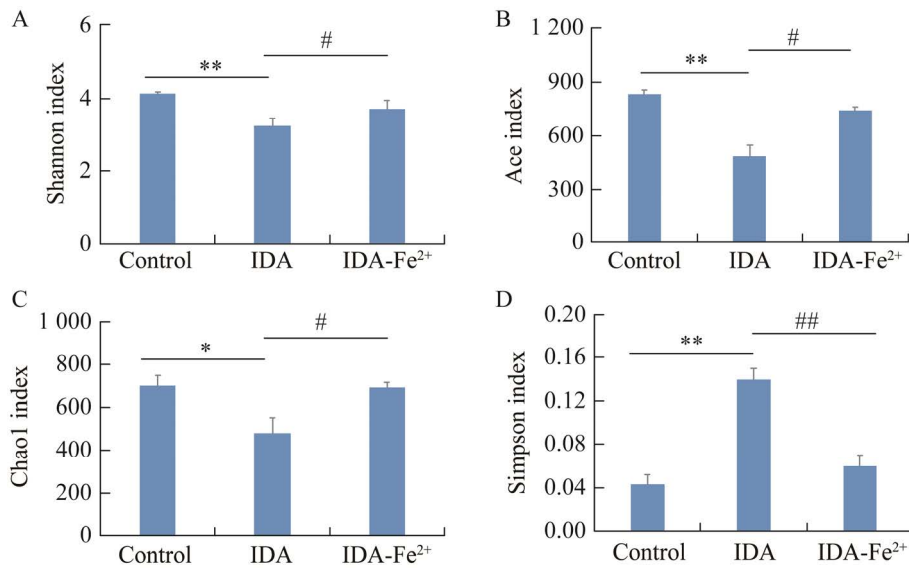


图 6 各组小鼠肠道菌群 α 多样性指数

Figure 6 Alpha diversity indexes of intestinal flora in each group of mice. A: Shannon index. B: Ace index. C: Chao1 index. D: Simpson index.

表明对照组和 IDA-Fe²⁺组聚集在一起，与 IDA 组显著分开。Venn 图(图 7B)可以用来统计样本中共有和独有的 OTU 数目，结果表明，3 组样本的共有 OTU 数目有 231 种，IDA 组独有 OTU 数目有 200 种，IDA-Fe²⁺组独有 OTU 数目有 265 种，显著高于 IDA 组($P < 0.05$)。

2.7 FeSO₄对 IDA 小鼠肠道菌群组成的影响

FeSO₄对 IDA 小鼠肠道菌群组成的影响如图 8 和图 9 所示。在门水平上(图 8A)，拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、疣微

菌门(*Verrucomicrobia*)和变形菌门(*Proteobacteria*)为优势菌门，占小鼠肠道菌群的 99%以上。与对照组相比，IDA 组 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* 丰度分别显著增加了 44.85%、12.81% ($P < 0.05$)，*Verrucomicrobia* 丰度显著下降了 97.43% ($P < 0.01$)。当补充 FeSO₄后，与 IDA 组相比，IDA-Fe²⁺组 *Proteobacteria* 丰度无显著性差异 ($P > 0.05$)，*Bacteroidetes* 丰度显著降低了 15.93% ($P < 0.05$)，*Verrucomicrobia* 丰度显著增加 27.29 倍 ($P < 0.01$)；与对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。

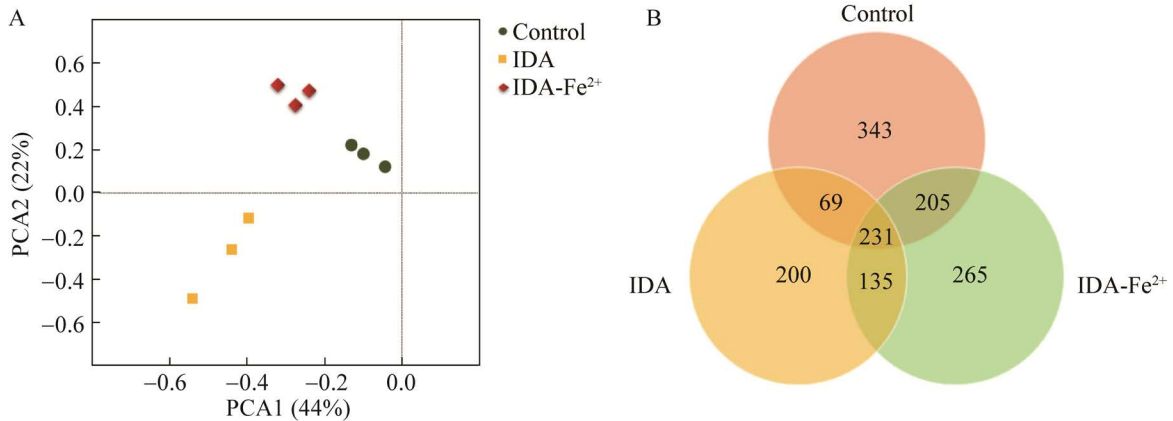


图 7 各组小鼠肠道菌群 PCA 分析图和 Venn 图

Figure 7 Principal component analysis (PCA) scores and Venn diagram of gut microbiome in each group of mice. A: PCA analysis. B: Venn analysis.

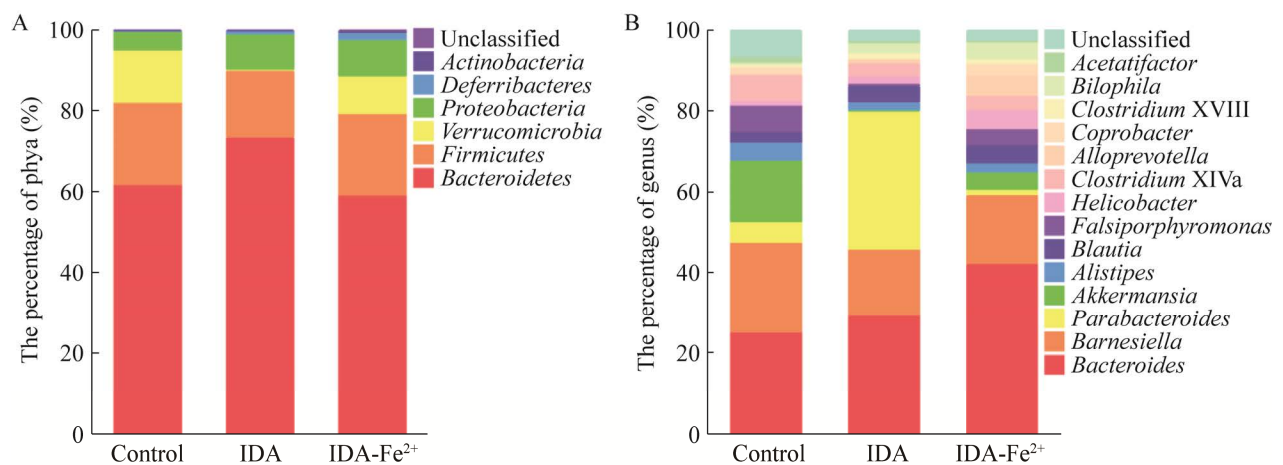


图 8 各组小鼠样本主要门和属水平菌群构成比例

Figure 8 Composition of main phyla and genus level flora in mouse samples of each group. A: Phyla levels. B: Genus levels.

在属水平上(图 8B), 丰度排名最高的前 15 种菌属为优势菌属, 如图 9 所示, IDA 组小鼠肠道中的 *Akkermansia*、*Alistipes*、*Falsiporphyrmonas* 和 *Coprobacter* 菌属丰度与对照组相比分别显著降低了 97.43% ($P<0.001$)、54.01% ($P<0.05$)、91.32% ($P<0.01$)、98.26% ($P<0.01$); *Parabacteroides*、*Clostridium XVIII*、*Alloprevotella*、*Bilophila* 分别显著增加了 85.31% ($P<0.01$)、58.30% ($P<0.05$)、

75.89% ($P<0.05$)和 77.63% ($P<0.01$)。补充 FeSO_4 后, IDA- Fe^{2+} 组小鼠肠道中的 *Akkermansia*、*Falsiporphyrmonas*、*Coprobacter* 与 IDA 组相比分别显著升高 9.87 倍 ($P<0.01$)、5.86 倍 ($P<0.05$)、100.60 倍 ($P<0.01$); *Parabacteroides* 显著降低了 96.34% ($P<0.01$)。但值得注意的是, IDA- Fe^{2+} 组小鼠肠道中的 *Alistipes*、*Clostridium XVIII*、*Alloprevotella*、*Bilophila* 并没有恢复至

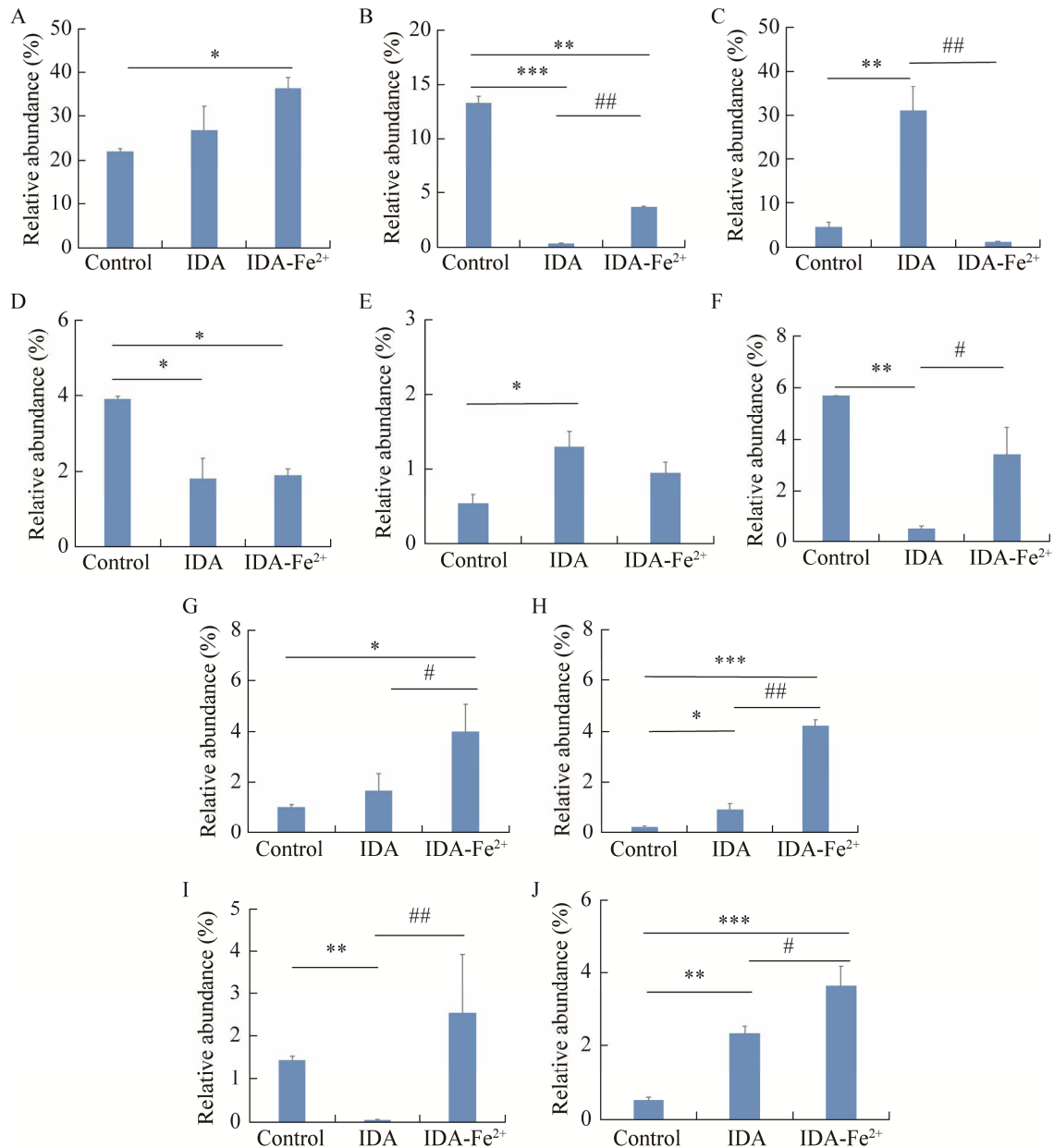


图9 各组小鼠属水平差异微生物相对丰度

Figure 9 Relative abundance of microorganisms in different groups of mice. A: *Bacteroides*. B: *Akkermansia*. C: *Parabacteroides*. D: *Alistipes*. E: *Clostridium XVIII*. F: *Falsiporphyromonas*. G: *Helicobacter*. H: *Alloprevotella*. I: *Coprobacter*. J: *Bilophila*.

正常水平，且 *Alloprevotella*、*Bilophila* 随着 FeSO₄ 的加入显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。另外我们还发现 *Bacteroides*、*Helicobacter* 在对照组和 IDA 组中丰度较低，补充 FeSO₄ 后，IDA-Fe²⁺ 组的 *Bacteroides*、*Helicobacter* 显著增加 ($P < 0.05$)。

3 讨论与结论

缺铁性贫血是一种影响儿童，妇女和老年人的全球性健康问题，同时也是多种医疗条件下的常见病症^[22]。FeSO₄ 作为常见的铁补充剂，

在治疗 IDA 方面得到了广泛的应用^[12]。本课题组前期研究发现, IDA 会导致小鼠结肠炎症损伤和肠道菌群紊乱^[23]。因此, 本试验在前期研究的基础上采用低铁饲料建立 IDA 小鼠模型, 通过喂食 IDA 小鼠 FeSO_4 探讨 FeSO_4 在治疗 IDA 时对小鼠肠道健康的影响。结果显示 FeSO_4 能够显著改善血常规中的 RBC、Hb、HCT、MCV、MCH 和 MCHC 等贫血指标, 这与王征等^[24]的研究结果一致, 说明 FeSO_4 确实能够改善 IDA 症状。

研究表明, IDA 发生时, 机体会产生过量的自由基, 导致抗氧化能力下降, 发生氧化应激损伤, 导致 MDA 含量显著升高, 同时过多的自由基也会导致机体 TAC 显著降低^[25-28], 我们的研究也支持以上结果。研究表明, 氧化应激可导致肠上皮细胞损伤, 加入脂质过氧化物后可切断细胞间的紧密连接^[29-31]肠上皮细胞除了受到氧化应激的损害外, 也会受到炎症因子 TNF- α 的影响, TNF- α 可通过影响细胞紧密连接蛋白 Occludin 的表达, 直接破坏紧密连接, 引起机体炎症反应^[32-33]。本研究结果也表明 IDA 会导致结肠 TNF- α 含量显著升高, Occludin 含量显著降低, 结肠上皮细胞受损。另外, 结肠氧化应激损伤可能与铁有关, 当机体受到应激反应时, Fe^{2+} 会在体内与 H_2O_2 结合发生 Fenton 反应产生 $\cdot\text{OH}$, 从而刺激胃肠道, 导致结肠表面产生大量自由基, 从而引起氧化应激损伤, 破坏肠上皮细胞的完整性, 引发炎症^[34-35]。在本研究中, 补充 FeSO_4 后小鼠结肠氧化应激指标、炎症指标, 结肠上皮损伤情况等均与 IDA 组相似。分析其中原因, 可能是由于 Fe^{2+} 在肠道内发生 Fenton 反应释放氧自由基, 进一步刺激结肠上皮细胞致使结肠组织损伤。

铁对于微生物及其宿主都是必不可少的, 饮食中铁的干预对宿主肠道菌群具有重要作

用, 铁失衡会导致肠道菌群紊乱, 改变肠道菌群多样性、降低有益菌丰度、增加致病菌丰度、诱导肠道炎症的发生发展^[36]。Pereira 等^[37]的研究表明, *Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Proteobacteria* 是补充纳米铁(III)或硫酸亚铁前后 IDA 小鼠的最主要菌群。Muleviciene 等^[38]发现 IDA 患者表现出 *Bacteroidetes* 和 *Proteobacteria* 的富集, *Verrucomicrobia* 丰度的降低, 而这与本研究结果一致。说明 FeSO_4 可以缓解由 IDA 引起的主要优势菌门的变化。*Bacteroides* 是哺乳动物肠道中的一个丰富属, 由于其在促进宿主健康方面的潜在作用, 被认为是下一代益生菌候选者^[39]。我们的结果也表明, 补充 FeSO_4 后 *Bacteroides* 丰度显著升高。*Akkermansia muciniphila* 作为一种潜在益生菌, 与炎症水平呈负相关^[40-41], 本研究的结果也表明 IDA 小鼠 *Akkermansia muciniphila* 丰度显著降低, 补充 FeSO_4 后 *Akkermansia muciniphila* 丰度显著升高, 表明该菌在 FeSO_4 改善 IDA 过程中可能发挥重要作用, 而这种作用可能与结肠炎症损伤有关。研究表明, *Parabacteroides* 和 *Lactobacillus* 的相对丰度与铁储量呈负相关, *Parabacteroides* 是能够引起腹腔内膜感染、腹泻等疾病的相关致病菌^[42-43]。本研究结果也表明, IDA 小鼠 *Parabacteroides* 丰度显著升高, 补充 FeSO_4 后, 其丰度显著降低。*Alistipes* 是主要存在健康人肠道中的一种革兰氏阴性菌, 可导致肠道炎症^[43-44]。本研究结果也表明, 补充 FeSO_4 前后 *Alistipes* 丰度均显著下降。*Falsiporphyromonas* 是一种绝对需铁菌, 生长和定殖都依赖于自身获取铁的能力, 且铁对该菌的生长和毒性都起着重要作用^[45-46]。本研究结果显示 IDA 小鼠 *Falsiporphyromonas* 丰度显著降低, 补充 FeSO_4 后 *Falsiporphyromonas* 丰度显著增加, 表明该菌与铁含量成正比, 与宿主可能存在铁竞争关

系。研究表明, 溃疡性结肠炎患者 *Coprobacter* 丰度显著降低^[47]。我们的结果表明低铁情况下 *Coprobacter* 丰度显著降低, 补充 FeSO_4 可显著提高 *Coprobacter* 的丰度。磷酸二乙酯可显著富集条件致病菌 *Alloprevotella* 和 *Helicobacter*, 导致白细胞介素 6 减少从而影响免疫炎症性疾病^[48], 且这 2 种菌均与 $\text{TNF-}\alpha$ 呈正相关^[49], 以上均与本研究结果一致, 说明这 2 种菌可能影响 FeSO_4 改善 IDA 结肠炎症。*Bilophila wadsworthia* 是一种人类肠道菌群中常见的严格厌氧菌, 与阑尾炎、结肠炎等疾病有关^[50], 将其与高脂饮食协同作用, 可促进更高的炎症反映^[51]。我们的结果也表明低铁和补充 FeSO_4 后 *Bilophila* 均高水平表达。*Clostridium difficile* infection (CDI) 是导致医疗保健相关腹泻的主要原因, 感染者表现出 *Clostridium* XVIII 高度表达^[52]。本研究结果显示出 IDA 小鼠 *Clostridium* XVIII 表达量显著升高, 说明 IDA 患者便秘的临床症状可能与该菌有关。

综上所述, 补充 FeSO_4 可有效恢复 IDA 小鼠的血象指标来改善贫血, 同时提高 IDA 小鼠肠道菌群丰度、均匀度和多样性指数, 增加有益菌丰度, 减少有害菌丰度, 具有一定的调节肠道菌群的作用, 但不能恢复 IDA 小鼠的氧化应激指标、炎症指标和结肠损伤情况。说明肠道菌群在 FeSO_4 改善 IDA 的过程中可能发挥重要作用, 接下来的研究可以集中在菌群剔除、粪菌移植、单菌分离及功能验证等方面来具体探究 FeSO_4 是否可以通过肠道菌群改善 IDA 症状。

参考文献

- [1] BAHDLA D, MARKOWITZ K, PAWAR S, CHAVAN K, FINE DH, VELLIYAGOUNDER K. The effect of iron deficiency anemia on experimental dental caries in mice[J]. *Archives of Oral Biology*, 2019, 105: 13-19.
- [2] SCHWARTZ AJ, CONVERSO-BARAN K, MICHELE DE, SHAH YM. A genetic mouse model of severe iron deficiency anemia reveals tissue-specific transcriptional stress responses and cardiac remodeling[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(41): 14991-15002.
- [3] 张志浩. 氧化应激对肉鸡肠道粘膜屏障功能的影响以及缓解肠道氧化损伤物质的研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2014.
ZHANG ZH. Effects of oxidative stress on the intestinal barrier function of broiler chickens and the research of substance to relieve the injury[D]. Taian: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [4] 金晓露. 白藜芦醇抵御奶牛乳腺上皮细胞氧化应激的作用机制研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2016.
JIN XL. Mechanisms underlying the cytoprotective effects of resveratrol against oxidative stress in bovine mammary epithelial cells[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2016 (in Chinese).
- [5] MEROÑO T, DAUTEUILLE C, TETZLAFF W, MARTÍN M, BOTTA E, LHOMME M, SAEZ MS, SORROCHE P, BOERO L, ARBELBIDE J, CHAPMAN MJ, KONTUSH A, BRITES F. Oxidative stress, HDL functionality and effects of intravenous iron administration in women with iron deficiency anemia[J]. *Clinical Nutrition*, 2017, 36(2): 552-558.
- [6] CHENG XR, GUAN LJ, MUSKAT MN, CAO CC, GUAN B. Effects of Ejiao peptide-iron chelates on intestinal inflammation and gut microbiota in iron deficiency anemic mice[J]. *Food & Function*, 2021, 12(21): 10887-10902.
- [7] 马薇, 夏芸, 郭力文, 周涛, 刘红霞, 王冲, 侯丽, 陈信义. 不同人群缺铁性贫血危险因素探讨[J]. *中国临床医生*, 2014, 42(10): 87-90.
MA W, XIA Y, GUO LW, ZHOU T, LIU HX, WANG C, HOU L, CHEN XY. Risk factors of iron deficiency anemia in different populations[J]. *Chinese Journal for Clinicians*, 2014, 42(10): 87-90 (in Chinese).
- [8] 宋涛. 3 种用药方案治疗小儿缺铁性贫血的最小成本分析[J]. *中国现代药物应用*, 2010, 4(11): 129-130.
SONG T. Minimum cost analysis of three medication schemes for the treatment of iron deficiency anemia in children[J]. *Chinese Journal of Modern Drug Application*, 2010, 4(11): 129-130 (in Chinese).
- [9] URSO K, LEAL MARTÍNEZ-BUJANDA J, DEL PRADO JM. Iron protein succinylate in the management of iron deficiency anemia: a comparative study with ferrous sulphate at low and high therapeutic

- doses[J]. *Nutrients*, 2021, 13(3): 968.
- [10] AKSAN A, SCHOEPFER A, JUILLERAT P, VAVRICKA S, BETTENCOURT M, de ARELLANO AR, GAVATA S, MORIN N, VALENTINE WJ, HUNT B. Iron formulations for the treatment of iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease: a cost-effectiveness analysis in Switzerland[J]. *Advances in Therapy*, 2021, 38(1): 660-677.
- [11] STALLMACH A, BÜNING C. Ferric maltol (ST10): a novel oral iron supplement for the treatment of iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease[J]. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2015, 16(18): 2859-2867.
- [12] HE H, HUANG Q, LIU CC, JIA SR, WANG YW, AN FP, SONG HB. Effectiveness of AOS-iron on iron deficiency anemia in rats[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(9): 5053-5063.
- [13] LIN L, ZHANG JQ. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases[J]. *BMC Immunology*, 2017, 18(1): 2.
- [14] YOON MY, YOON SS. Disruption of the gut ecosystem by antibiotics[J]. *Yonsei Medical Journal*, 2018, 59(1): 4-12.
- [15] 袁施彬. 仔猪氧化应激及硒的抗应激效应和机理的研究[D]. 雅安: 四川农业大学博士学位论文, 2007.
- YUAN SB. Impacts of oxidative stress on piglets and the anti-stress effects and mechanism of selenium[D]. Ya'an: Doctoral Dissertation of Sichuan Agricultural University, 2007 (in Chinese).
- [16] 潘宝海, 王文娟, 孙笑非, 孙冬岩. 微生物菌群在维护肠道屏障完整性中的作用[J]. *饲料研究*, 2012(6): 36-37, 41.
- PAN BH, WANG WJ, SUN XF, SUN DY. The role of microorganisms in maintaining the integrity of intestinal barrier[J]. *Feed Research*, 2012(6): 36-37, 41 (in Chinese).
- [17] SHAWKI A, MCCOLE DF. Mechanisms of intestinal epithelial barrier dysfunction by adherent-invasive *Escherichia coli*[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2017, 3(1): 41-50.
- [18] 黄雨三. 保健食品检验与评价技术规范实施手册[M]. 北京: 清华同方电子出版社, 2003.
- HUANG YS. Health Food Inspection and Evaluation Technical Specification Implementation Manual[M]. Beijing: Tsinghua Tongfang Electronic Press, 2003 (in Chinese).
- [19] 杨霞. 狭鳕鱼皮明胶和罗非鱼皮明胶抗贫血活性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 2013.
- YANG X. Study on the antianemia activity of gelatin from walleye pollock skin and *Tilapia* skin[D]. Qingdao: Master's Thesis of Ocean University of China, 2013 (in Chinese).
- [20] 王尔胤. 具有缓解结直肠癌功能的乳酸菌的筛选与机制研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2017.
- WANG EY. The screening of *Lactobacillus* which can suppress colorectal cancer and the research of its mechanism[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2017 (in Chinese).
- [21] 苗明三, 朱飞鹏. 常用医药研究动物模型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- MIAO MS, ZHU FP. Commonly used animal models for medical research[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007 (in Chinese).
- [22] CAPPELLINI MD, MUSALLAM KM, TAHER AT. Iron deficiency anaemia revisited[J]. *Journal of Internal Medicine*, 2020, 287(2): 153-170.
- [23] 王森, 万鹏, 诸琳, 程文, 宋丹靓敏, 雷虹. 缺铁性贫血(IDA)引起的小鼠结肠损伤[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2019, 36(2): 212-218.
- WANG M, WAN P, ZHU L, CHENG W, SONG D, LEI H. Colonic injury in mice caused by iron deficiency anemia (IDA)[J]. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 2019, 36(2): 212-218 (in Chinese).
- [24] 王征, 常慧, 刘秋霞, 曹秀珍. 小剂量铁剂联合益生菌治疗缺铁性贫血的疗效分析[J]. *当代医学*, 2021, 27(31): 63-65.
- WANG Z, CHANG H, LIU QX, CAO XZ. Analysis of curative effect of small dose of iron combined with probiotics in the treatment of patients with iron deficiency anemia[J]. *Contemporary Medicine*, 2021, 27(31): 63-65 (in Chinese).
- [25] AKÇA H, POLAT A, KOCA C. Determination of total oxidative stress and total antioxidant capacity before and after the treatment of iron-deficiency anemia[J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2013, 27(3): 227-230.
- [26] BAY A, DOGAN M, BULAN K, KABA S, DEMIR N, ÖNER AF. A study on the effects of pica and iron-deficiency anemia on oxidative stress, antioxidant capacity and trace elements[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2013, 32(9): 895-903.
- [27] 王勤. 山萘酚磺化衍生物体内外抗氧化活性研究[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2015.
- WANG Q. The study on antioxidant activities of kaempferol sulfonate derivatives *in vitro* and *vivo*[D].

- Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2015 (in Chinese).
- [28] ALTUN D, KUREKCI AE, GURSEL O, HACIHAMDIOGLU DO, KURT I, AYDIN A, OZCAN O. Malondialdehyde, antioxidant enzymes, and renal tubular functions in children with iron deficiency or iron-deficiency anemia[J]. *Biological Trace Element Research*, 2014, 161(1): 48-56.
- [29] SHIGETOMI K, ONO Y, INAI T, IKENOUCI J. Adherens junctions influence tight junction formation via changes in membrane lipid composition[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2018, 217(7): 2373-2381.
- [30] JOO HC, CHOI JW, MOON H, LEE CY, YOO KJ, KIM SW, HWANG KC. Protective effects of kenpaullone on cardiomyocytes following H₂O₂-induced oxidative stress are attributed to inhibition of connexin 43 degradation by SGSM3[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 499(2): 368-373.
- [31] MANDA B, MIR H, GANGWAR R, MEENA AS, AMIN S, SHUKLA PK, DALAL K, SUZUKI T, RAO R. Phosphorylation hotspot in the C-terminal domain of occludin regulates the dynamics of epithelial junctional complexes[J]. *Journal of Cell Science*, 2018, 131(7): jcs206789.
- [32] WATARI A, SAKAMOTO Y, HISAIE K, IWAMOTO K, FUETA M, YAGI K, KONDOH M. Rebeccamycin attenuates TNF- α -induced intestinal epithelial barrier dysfunction by inhibiting myosin light chain kinase production[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 2017, 41(5): 1924-1934.
- [33] 夏冰, 孟庆石, 解竞静, 吴维达, 冯潇慧, 唐湘方, 张宏福. 21 日龄断奶对仔猪肠道形态、肠道通透性及肠黏膜屏障的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(6): 2097-2108.
- XIA B, MENG QS, XIE JJ, WU WD, FENG XH, TANG XF, ZHANG HF. Effects of weaning at 21 days of age on intestinal morphology, permeability and mucosal barrier of piglets[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(6): 2097-2108 (in Chinese).
- [34] CARRIER J, AGHDASSI E, PLATT I, CULLEN J, ALLARD JP. Effect of oral iron supplementation on oxidative stress and colonic inflammation in rats with induced colitis[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2001, 15(12): 1989-1999.
- [35] XUE X, SHAH YM. Intestinal iron homeostasis and colon tumorigenesis[J]. *Nutrients*, 2013, 5(7): 2333-2351.
- [36] MAYNERIS-PERXACHS J, CARDELLINI M, HOYLES L, LATORRE J, DAVATO F, MORENO-NAVARRETE JM, ARNORIAGA-RODRÍGUEZ M, SERINO M, ABBOTT J, BARTON RH, PUIG J, FERNÁNDEZ-REAL X, RICART W, TOMLINSON C, WOODBRIDGE M, GENTILESCHI P, BUTCHER SA, HOLMES E, NICHOLSON JK, PÉREZ-BROCAL V, et al. Iron status influences non-alcoholic fatty liver disease in obesity through the gut microbiome[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 104.
- [37] PEREIRA DIA, ASLAM MF, FRAZER DM, SCHMIDT A, WALTON GE, MCCARTNEY AL, GIBSON GR, ANDERSON GJ, POWELL JJ. Dietary iron depletion at weaning imprints low microbiome diversity and this is not recovered with oral nano Fe(III)[J]. *Microbiology Open*, 2015, 4(1): 12-27.
- [38] MULEVICIENE A, D'AMICO F, TURRONI S, CANDELA M, JANKAUSKIENE A. Iron deficiency anemia-related gut microbiota dysbiosis in infants and young children: a pilot study[J]. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2018, 65(4): 551-564.
- [39] WANG C, ZHAO JX, ZHANG H, LEE YK, ZHAI QX, CHEN W. Roles of intestinal bacteroides in human health and diseases[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(21): 3518-3536.
- [40] ZHAI R, XUE XH, ZHANG LY, YANG X, ZHAO LP, ZHANG CH. Strain-specific anti-inflammatory properties of two *Akkermansia muciniphila* strains on chronic colitis in mice[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2019, 9: 239.
- [41] 陶晴, 王嫻, 彭宇明, 高千. 嗜黏蛋白阿克曼菌在疾病中的保护性作用及机制研究进展[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(5): 1912-1926.
- TAO Q, WANG L, PENG YM, GAO Q. Protective effect of *Akkermansia muciniphila* in diseases and the mechanisms[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(5): 1912-1926 (in Chinese).
- [42] la CARPIA F, WOJCZYK BS, ANNAVJHALA MK, REBBAA A, CULP-HILL R, D'ALESSANDRO A, FREEDBERG DE, UHLEMANN AC, HOD EA. Transfusional iron overload and intravenous iron infusions modify the mouse gut microbiota similarly to dietary iron[J]. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 2019, 5: 26.
- [43] 曲巍, 张智, 马建章, 刘慧, 雅男. 高通量测序研究益生菌对小鼠肠道菌群的影响[J]. *食品科学*, 2017,

- 38(1): 214-219.
- QU W, ZHANG Z, MA JZ, LIU H, YA N. Effect of probiotics on gut microbiota in mice evaluated by high-throughput sequencing[J]. Food Science, 2017, 38(1): 214-219 (in Chinese).
- [44] DOSTAL A, FEHLBAUM S, CHASSARD C, ZIMMERMANN MB, LACROIX C. Low iron availability in continuous *in vitro* colonic fermentations induces strong dysbiosis of the child gut microbial consortium and a decrease in main metabolites[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 83(1): 161-175.
- [45] KAIZUKA K, HOSOGI Y, HAYAKAWA M, SHIBATA Y, ABIKO Y. Human monoclonal antibody inhibits *Porphyromonas gingivalis* hemagglutinin activity[J]. Journal of Periodontology, 2003, 74(1): 38-43.
- [46] GRENIER D, GOULET V, MAYRAND D. The capacity of *Porphyromonas gingivalis* to multiply under iron-limiting conditions correlates with its pathogenicity in an animal model[J]. Journal of Dental Research, 2001, 80(7): 1678-1682.
- [47] GRYAZNOVA MV, SOLODSKIKH SA, PANEVINA AV, SYROMYATNIKOV MY, DVORETSKAYA YD, SVIRIDOVA TN, POPOV ES, POPOV VN. Study of microbiome changes in patients with ulcerative colitis in the Central European part of Russia[J]. Heliyon, 2021, 7(3): e06432.
- [48] YANG FW, LI JW, PANG GF, REN FZ, FANG B. Effects of diethyl phosphate, a non-specific metabolite of organophosphorus pesticides, on serum lipid, hormones, inflammation, and gut microbiota[J]. Molecules, 2019, 24(10): 2003.
- [49] YANG XZ, HE ZY, HU RZ, YAN JH, ZHANG QJ, LI BZ, YUAN XP, ZHANG HF, HE JH, WU SS. Dietary β -carotene on postpartum uterine recovery in mice: Crosstalk between gut microbiota and inflammation[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 744425.
- [50] BURRICHTER AG, DÖRR S, BERGMANN P, HAIß S, KELLER A, FOURNIER C, FRANCHINI P, ISONO E, SCHLEHECK D. Bacterial microcompartments for isethionate desulfonation in the taurine-degrading human-gut bacterium *Bilophila wadsworthia*[J]. BMC Microbiology, 2021, 21(1): 340.
- [51] NATIVIDAD JM, LAMAS B, PHAM HP, MICHEL ML, RAINTEAU D, BRIDONNEAU C, DA COSTA G, van HYLCKAMA Vlieg J, SOVRAN B, CHAMIGNON C, PLANCHAIS J, RICHARD ML, LANGELLA P, VEIGA P, SOKOL H. *Bilophila wadsworthia* aggravates high fat diet induced metabolic dysfunctions in mice[J]. Nature Communications, 2018, 9: 2802.
- [52] GAZZOLA A, PANELLI S, CORBELLA M, MERLA C, COMANDATORE F, de SILVESTRI A, PIRALLA A, ZUCCARO V, BANDI C, MARONE P, CAMBIERI P. Microbiota in *Clostridioides difficile*-associated diarrhea: comparison in recurrent and non-recurrent infections[J]. Biomedicines, 2020, 8(9): 335.