

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.23.013

黄连素对 2 型糖尿病患者血清炎症因子水平及肠道双歧杆菌的影响

陈玲玲, 陆文松, 廖水玉, 李董平, 李佑生*

(深圳市人民医院/暨南大学第二临床医学院, 广东省深圳市东门北路 1017 号, 518000)

摘要 目的 观察黄连素对 2 型糖尿病患者血清炎症因子水平及肠道双歧杆菌的影响。方法 纳入 2 型糖尿病患者 (糖尿病组) 及健康志愿者 (健康组) 各 20 例。糖尿病组予黄连素, 每次 0.3 g, 每日 3 次, 治疗 8 周。观察健康组及糖尿病组治疗前后脂多糖、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、空腹血糖 (FBG)、糖化血红蛋白 (HbA_{1c})、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及粪便中双歧杆菌总菌的数量。结果 与健康组比较, 糖尿病组治疗前后肠道双歧杆菌数量显著减少, 脂多糖、TNF- α 水平显著升高 ($P < 0.01$)。Spearman 相关分析, 糖尿病组患者治疗前双歧杆菌数量与脂多糖、TNF- α 均呈负相关 ($P < 0.05$)。与治疗前比较, 糖尿病组治疗后双歧杆菌数量显著升高, 脂多糖、TNF- α 、FBG、HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 黄连素可以降低 2 型糖尿病患者血清炎症因子水平, 增加肠道双歧杆菌的数量, 并在一定程度上改善糖脂代谢紊乱。

关键词 2 型糖尿病; 黄连素; 肠道菌群; 双歧杆菌; 糖脂代谢; 炎症因子

双歧杆菌是肠道中主要的益生菌, 与 2 型糖尿病、肥胖等代谢性疾病密切相关^[1-2]。小檗碱是从黄连等植物中提取的异喹啉类生物碱。近年的实验研究显示, 小檗碱可能可以通过调节肠道菌群而降血糖调血脂、改善胰岛功能^[3-4]。因此, 本文以临床研究为基础, 拟分析黄连素 (盐酸小檗碱片) 对糖尿病患者肠道双歧杆菌的影响, 并结合炎症机制进行机理探讨。本研究通过深圳市人民医院伦理委员会审查。

1 临床资料

1.1 诊断标准

参照世界卫生组织 (1999 年) 糖尿病诊断标准^[5], 1) 有典型症状, 空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L 或餐后 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L。2) 无典型症状, 仅空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L 或餐后 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L, 应再重复 1 次, 仍达以上值者, 可确诊为糖尿病。3) 无典型症状, 仅空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L 或餐后 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L 或糖耐量实验 2 小时血糖 ≥ 11.1 mmol/L。符合 1)、2)、

3) 中任意一条即可确诊。

1.2 纳入标准

健康志愿者: 1) 年龄 18 ~ 65 岁; 2) 体检正常, 无糖尿病及高血压病, 无感染性疾病及消化系统疾病; 3) 近 1 个月内未使用过小檗碱、抗生素、微生态活菌制剂及乳果糖等药物; 4) 签署知情同意书。

糖尿病患者: 1) 确诊 2 型糖尿病时间 < 1 年, 且诊断本病前 1 年有体检但未发现糖尿病; 2) 年龄 18 ~ 65 岁; 3) 体重指数 (BMI) > 25 ; 4) 近 4 周内未服用黄连素、抗生素、微生态活菌制剂及乳果糖等药物; 5) 签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 患有脑血管意外、冠心病、糖尿病肾病等糖尿病并发症者; 2) 有消化系统疾病者; 3) 有自身免疫性疾病者; 4) 中、重度肝肾功能损害者 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) / 门冬氨酸氨基转移酶 (AST) > 2.5 或内生肌酐清除率 (Ccr) < 25 ml/min]; 5) 伴有急性感染者; 6) 过敏体质者; 7) 既往有牙周病病史者。

* 通讯作者: syzyklys@163.com, 18025388926

1.4 一般资料

选取 2014 年 9 月至 2015 年 2 月深圳市人民医院门诊及住院的 2 型糖尿病患者 20 例 (糖尿病组), 健康志愿者 20 例 (健康组)。健康组中男 11 例, 女 9 例, 平均年龄 (48.03 ± 7.23) 岁。糖尿病组中男 12 例, 女 8 例, 平均年龄 (47.79 ± 7.87) 岁, 平均病程 (5.33 ± 2.27) 个月。两组性别、年龄比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

2 方法

2.1 治疗方法

糖尿病组患者给予盐酸小檗碱片 (黄连素, 广东华南药业集团有限公司, 批号 140502), 每次 0.3 g, 每日 3 次, 饭后 30 min 服用, 治疗 8 周。

2.2 观察指标及方法

两组受试者入组当天、糖尿病组治疗后清晨空腹采集肘静脉血液及粪便标本。监测粪便双歧杆菌的定量结果。粪便标本经过预处理后, 按细菌 DNA 提取试剂盒 (批号: E. Z. N. A.® Stool DNA Kit, 美国 Omega 公司) 说明书步骤提取粪便 DNA, 根据双歧杆菌的 16SrRNA 基因序列, 设计属种特异性引物, 引物序列, 16SrRNA, 126bp, 上游: GCGTGCTTAACACACATGCAAGTC。下游: CACCCGTTTCCAGGAGCTATT, 引物委托上海生物工程有效公司合成。实时荧光定量 PCR (Applied Biosystems 公司, 型号: 7500) 检测粪便标本中双歧杆菌数量。

监测糖尿病组治疗前后与健康组受试者炎症因子 [肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、脂多糖、空腹血糖 (FBG)、糖化血红蛋白 (HbA1c)] 及血脂 [总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)] 水平。

糖尿病组服药期间每周进行电话随访, 记录服药后情况及是否有不良反应。服药期间维持原生活习惯及饮食习惯。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件分析数据。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 服从正态分布且方差齐的两组间比较用两独立样本 t 检验。非正态分布资料或方差不齐的采用秩和检验。相关性关系分析用 Spearman 相关。采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 糖尿病组治疗前后与健康组粪便双歧杆菌及血清炎症因子水平比较

表 1 示, 与健康组比较, 糖尿病组治疗前双歧杆菌数显著减少 ($t = 5.173, P = 0.002$), 脂多糖水平显著升高 ($t = 16.167, P < 0.001$), TNF- α 水平显著升高 ($t = 16.025, P < 0.001$); 糖尿病组治疗后双歧杆菌数显著减少 ($t = 3.598, P = 0.008$), 脂多糖水平显著升高 ($t = 7.704, P = 0.001$), TNF- α 水平显著升高 ($t = 9.731, P < 0.001$)。与本组治疗前比较, 糖尿病组治疗后双歧杆菌数显著升高 ($t = 2.163, P = 0.015$), 脂多糖水平显著降低 ($t = 8.554, P < 0.001$), TNF- α 水平显著降低 ($t = 8.323, P < 0.001$)。

3.2 糖尿病组治疗前粪便双歧杆菌数量与脂多糖、TNF- α 相关性分析

Spearman 相关分析发现, 糖尿病组治疗前患者肠道双歧杆菌数与炎症因子脂多糖 ($r = -0.951, P < 0.001$) 及 TNF- α ($r = -0.958, P < 0.001$) 均呈负相关关系。

3.3 糖尿病组治疗前后与健康组 FBG、HbA1c 及血脂水平比较

表 2 示, 与健康组比较, 糖尿病组治疗前后 FBG、HbA1c、TC、TG、LDL-C 显著升高, HDL-C 显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与治疗前比较, 糖尿病组治疗后 FBG ($t = 2.656, P = 0.026$), HbA1c ($t = 3.576, P = 0.006$), TC ($t = 3.315, P = 0.009$), TG ($t = 2.4115, P = 0.039$), LDL-C ($t = 4.424, P = 0.0017$), HDL-C ($t = 3.586, P = 0.0059$) 均显著下降。

表 1 糖尿病组治疗前后与健康组受试者粪便双歧杆菌及血清炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	双歧杆菌 (Lg 拷贝数/克湿便)	脂多糖 (EU/L)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)
健康组		20	6.817 ± 0.141	278.83 ± 17.45	123.51 ± 11.35
糖尿病组	治疗前	20	$6.223 \pm 0.308^*$	$434.27 \pm 18.65^*$	$219.22 \pm 19.45^*$
	治疗后	20	$6.479 \pm 0.258^{*\Delta}$	$347.21 \pm 20.15^{*\Delta\Delta}$	$158.94 \pm 5.45^{*\Delta\Delta}$

注: TNF- α , 肿瘤坏死因子- α ; 与健康组比较, $* P < 0.01$; 与本组治疗前比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

表 2 糖尿病组治疗前后与健康组受试者 FPG、HbA1c 及血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	FBG (mmol/L)	HbA1c (%)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
健康组		20	5.113 ± 0.355	5.300 ± 0.276	5.077 ± 0.563	1.569 ± 0.134	2.697 ± 0.733	1.282 ± 0.381
糖尿病组	治疗前	20	7.753 ± 1.586 **	7.230 ± 1.322 **	5.825 ± 1.742 **	2.740 ± 2.093 **	3.030 ± 1.163 **	1.172 ± 0.431 *
	治疗后	20	7.132 ± 1.390 **△	6.400 ± 1.186 **△△	5.377 ± 1.667 **△△	1.880 ± 1.153 *△	2.783 ± 1.035 *△△	0.957 ± 0.331 **△△

注: FBG, 空腹血糖; HbA1c, 糖化血红蛋白; TC, 总胆固醇; TG, 甘油三酯; LDL-C, 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; 与健康组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与本组治疗前比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$

4 讨论

脂多糖是革兰氏阴性菌细胞壁的重要成分, 革兰氏阴性菌死亡后释放脂多糖^[6]。研究显示, 不合理的饮食习惯破坏了肠道菌群的正常结构, 产生免疫毒素, 破坏肠道的屏障功能, 增加了肠壁通透性, 促使脂多糖进入血液, 引发内毒素血症^[7-8]。虽然明显低于感染性休克的内毒素水平 (约为十到五十分之一), 但长期低水平的脂多糖足以增加机体炎症因子的表达, 使机体呈现低度炎症, 引发胰岛素抵抗, 最终导致糖尿病^[9]。

双歧杆菌是肠道中主要的益生菌。Cani 等^[10]研究显示, 双歧杆菌的数量与葡萄糖的耐受情况及胰岛素水平呈显著的正相关关系, 而与脂多糖、促炎症因子水平呈显著负相关关系, 表明双歧杆菌与 2 型糖尿病的炎症水平密切相关。本研究也发现, 与健康组相比, 糖尿病组肠道双歧杆菌数量显著减少, 血清脂多糖及 TNF- α 水平均显著增高, 且糖尿病患者肠道双歧杆菌的数量与体内的炎症因子水平呈负相关关系。

糖尿病属中医学“消渴”范畴。《素问·奇病论》曰“有病口甘者, 名曰脾瘴, 此肥美之所发也, 其人必数食甘美而多肥, 甘者令人中满, 肥者令人内热, 故其气上溢, 转为消渴。”早期 2 型糖尿病伴肥胖患者, 病程较短, 证型较简单, 多因过食膏粱厚味, 酿生湿热, 积于胃肠。过食肥甘改变了肠道菌群的结构, 增加了能量获取和脂肪储存, 导致炎症水平升高。这种炎症水平的升高可能是消渴病“内热”的重要病理基础之一。通过改变肠道菌群结构, 降低炎症水平, 清“内热”而改善胰岛素抵抗, 可能是降糖调脂、治疗糖尿病的方法之一。

黄连苦、寒, 能清热、燥湿、泻火, 归胃与大肠经, 尤能泄胃肠之热, 燥胃肠之湿。《新修本草》言其“蜀道者粗大, 味极浓苦, 疗渴为最”。小檗碱是从黄连等植物中提取的异喹啉类生物碱。研究证实, 小檗碱能改善血糖血脂, 并能通过降低患者体内炎症水平而提高胰岛素的敏感性^[11]。本

研究结果显示, 黄连素可以显著增加 2 型糖尿病患者肠道双歧杆菌的数量, 并能降低患者体内的炎症因子水平, 对调节血糖、糖化血红蛋白及血脂有一定作用。

参考文献

- [1] KALLIOMAKI M, COLLADO MC, SALMINEN S, et al. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight [J]. Am J Clin Nutr, 2008, 87 (3): 534-538.
- [2] CANI PD, NEYRINCK AM, FAVA F, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia [J]. Diabetologia, 2007, 50 (11): 2374-2383.
- [3] XIE W, GU D, LI J, et al. Effects and action mechanisms of berberine and Rhizoma coptidis on gut microbes and obesity in high-fat diet-fed C57BL/6J mice [J]. PLoS One, 2011, 6 (9): e24520. doi: 10.1371/journal.pone.0024520.
- [4] ZHANG X, ZHAO Y, ZHANG M, et al. Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats [J]. PLoS one, 2012, 7 (8): e42529. doi: 10.1371/journal.pone.0042529.
- [5] World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation [R]. Geneva: World Health Organization, 1999.
- [6] CANI PD, DELZENNE NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease [J]. Curr Pharm Des, 2009, 15 (13): 1546-1558.
- [7] CANI PD, AMAR J, IGLESIAS MA, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance [J]. Diabetes, 2007, 56 (7): 1761-1772.
- [8] CANI PD, POSSEMIERS S, VAN DE WIELE T, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability [J]. Gut, 2009, 58 (8): 1091-1103.
- [9] CANI PD, BIBILONI R, KNAUF C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice

Ⅱ. Diabetes, 2008, 57(6): 1470-1481.
 [10] ZHANG YF, LI XY, ZOU DJ, et al. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid

berberine [J]. Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(7): 2559-2565.

Effect of Berberine Hydrochloride Tablets on Serum Levels of Inflammatory Factors and Intestinal Bifidobacteria in Patients with Diabetes Mellitus Type 2

CHEN Lingling, LU Wensong, LIAO Shuiyu, LI Dongping, LI Yousheng

(People's Hospital of Shenzhen City/The Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen. 518000)

ABSTRACT Objective To observe the effect of berberine hydrochloride tablets on serum levels of inflammatory factors and intestinal bifidobacteria in patients with diabetes mellitus type 2. **Methods** Twenty patients with diabetes mellitus type 2 (the diabetic group) and 20 healthy volunteers (the healthy group) were enrolled. The diabetic group was given berberine hydrochloride tablets, 0.3 g per time, three times every day, for 8 weeks. Levels of lipopolysaccharide, tumor necrosis factor- α (TNF- α), fasting blood glucose (FBG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and the amount of total bifidobacteria in faeces in the healthy group and the diabetic group were observed before and after treatment. **Results** Compared with the healthy group, the amount of intestinal bifidobacteria in the diabetic group remarkably decreased before and after treatment, while levels of lipopolysaccharide and TNF- α remarkably increased ($P < 0.01$). According to Spearman correlation analysis, the amount of bifidobacteria before treatment had negative correlations with the levels of lipopolysaccharide and TNF- α ($P < 0.05$). Compared with that before treatment, the amount of intestinal bifidobacteria in the diabetic group remarkably increased after treatment, while levels of lipopolysaccharide, TNF- α , FBG, HbA1c, TC, TG, LDL-C and HDL-C all remarkably decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Berberine hydrochloride tablets could decrease serum levels of inflammatory factors and increase the amount of intestinal bifidobacteria in patients with diabetes mellitus type 2, and could improve glucolipid metabolism disorder to some degree.

Keywords diabetes mellitus type 2; berberine hydrochloride tablets; intestinal flora; bifidobacteria; glucolipid metabolism; inflammatory factors

(收稿日期: 2015-12-07; 修回日期: 2016-09-06)

编辑: 王利芬